

Herstellung und Charakterisierung von Metall-organischen Gerüstverbindungen als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. rer. nat.

Eingereicht an der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät

der Universität Augsburg von

Romy Lena Ettlinger



Augsburg, Oktober 2020

Erstgutachter: Prof. Dr. Dirk Volkmer
Zweitgutachter: Prof. Dr. Achim Wixforth
Drittgutachter: Prof. Dr. Stefan Wuttke

Mündliche Prüfung am: 14.12.2020

Sola dosis facit venenum.

—

Nur die Dosierung macht das Gift.

—

The dose makes the poison.

Paracelsus

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Kurzzusammenfassung	V
Abstract	VI
Abkürzungsverzeichnis	VII
1. Motivation	1
2. Stand der Forschung.....	5
2.1. Krebstherapie - Von der konventionellen Therapie zur Theragnostik.....	5
2.2. Arsenhaltige Wirkstoffe in der Krebstherapie.....	7
2.3. Metall-organische Gerüstverbindungen	11
2.4. Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel als Theragnostikum	16
2.5. Metall-organische Gerüstverbindungen mit superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln als Kern.....	18
3. Zielsetzung.....	21
4. Analytische Methoden.....	23
4.1. Röntgendiffraktion	25
4.2. Schwingungsspektroskopie	27
4.3. Thermogravimetrische Analyse	30
4.4. Physisorptionsanalyse.....	31
4.5. Elektronenmikroskopie	32
4.6. Energie-disperse Röntgenspektroskopie	34
4.7. Induktiv gekoppelte Plasma-optische Emissionsspektroskopie	36
4.8. CHNS-Elementaranalyse	37
4.9. <i>In vitro</i> Zytotoxizitätsstudien	38
4.10. Supraleitende Quanteninterferenzeinheit	39
4.11. Magnetresonanz-Relaxation und -Tomographie.....	40
4.12. Quantenmechanische Rechnungen	41
5. Ergebnisse und Diskussion.....	43

5.1. MFU-4l Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid	43
5.2. Zn-MOF-74 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid	55
5.3. ZIF-8 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid	65
5.4. Beschichtung von MOF Nanopartikeln	77
5.5. Fe ₃ O ₄ Nanopartikel.....	83
5.6. Fe ₃ O ₄ -MOF Kern-Schale-Nanopartikel	89
5.7. Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als theragnostisches Drug Delivery System für Arsentrioxid	97
5.8. Vergleich der verschiedenen Drug Delivery Systeme	113
6. Zusammenfassung und Ausblick.....	129
7. Literaturverzeichnis	139
A. Anhang – Kapitel 5.1	147
A.1. Charakterisierung von MFU-4l, MFU-4l-OAs(OH) ₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH) ₂ ..	147
A.2. Quantenmechanische Rechnungen	151
A.3. Wirkstoff-Freisetzung und MOF Stabilitätsstudien	154
A.4. <i>In vitro</i> Zytotoxizitätsstudien	162
B. Anhang – Kapitel 5.2	163
B.1. Charakterisierung von arsenfreiem und arsenhaltigem Zn-MOF-74	163
B.2. Wirkstoff-Freisetzung und MOF Stabilitätsstudien	165
C. Anhang – Kapitel 5.3	167
C.1. Charakterisierung von ZIF-8, As@ZIF-8 und PEG-NH ₂ @As@ZIF-8	167
C.2. Quantenmechanische Rechnungen	171
C.3. Wirkstoff-Freisetzung und MOF-Stabilitätsstudien	173
C.4. <i>In vitro</i> Zytotoxizitätsstudien	180
D. Anhang Kapitel 5.4	183
D.1. Thermogravimetrische Analyse	183
D.2. FT-IR-Spektroskopie	185
E. Anhang – Kapitel 5.7	187
E.1. Charakterisierung von PEG-NH ₂ @Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 und PEG-NH ₂ @As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8.	187

E.2. Wirkstoff-Freisetzung und Stabilitätsstudien	190
E.3. <i>In vitro</i> Zytotoxizitätsstudien	194
F. Diverses	197
F.1. Publikationsliste	197
F.2. Konferenz-, Workshopteilnahmen und Präsentationen.....	199
F.3. Förderung	200
G. Danksagung.....	201

Kurzzusammenfassung

In jüngster Zeit wurde die Eignung hochtoxischer arsenhaltiger Verbindungen, wie Arsentrioxid (ATO), als äußerst nützliches und vielversprechendes Medikament in der Krebsforschung wiederentdeckt. Ihre hohe Toxizität erschwert allerdings deren Einsatz in höheren therapeutischen Dosen und somit die Behandlung von soliden Tumorentitäten. Daher wird in dieser Arbeit ein neuartiger Ansatz vorgestellt diese Problematik anzugehen. Es wurden erstmals Metall-organische Gerüstverbindungen (zu engl.: Metal-Organic Frameworks = MOFs) als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe eingeführt. Auf der Basis präzise ausgearbeiteter Beladungsstrategien ist es dabei erfolgreich gelungen hohe Mengen an arsenhaltigen Wirkstoffen postsynthetisch über koordinative Bindungen direkt in das Netzwerk von drei verschiedenen MOFs, namens MFU-4l, Zn-MOF-74 und ZIF-8, zu integrieren. Diese Modellbeispiele für MOF-basierte Trägermaterialien übertreffen die bisher in der Literatur bekannten ATO-Trägermaterialien im Hinblick auf die essenziellen Kriterien deutlich: Neben einer hohen Wirkstoff-Beladungskapazität ermöglichen diese nämlich auch eine günstige pH-gesteuerte Freisetzung. Zudem konnten vielversprechende Resultate in ersten *in vitro* Zytotoxizitätsstudien erzielt werden. Desweiteren wurde das erste Modellbeispiel für ein MOF-basiertes Theragnostikum, namens Fe_3O_4 -ZIF-8, für arsenhaltige Wirkstoffe entwickelt und charakterisiert. Dieses hat sich sowohl als ein geeignetes pH-sensitives Drug Delivery System und gleichzeitig als effektives Magnetresonanztomographie-Kontrastmittel erwiesen. Die erlangten Erkenntnisse dieser Arbeit erweitern das bestehende Wissen zur Behandlung solider Tumorentitäten und stellen folglich einen wichtigen Fortschritt bei der Entwicklung alternativer Therapien in der Krebsforschung dar.

Abstract

Recently, the suitability of highly toxic arsenic-containing compounds, such as arsenic trioxide (ATO), has been rediscovered as an extremely useful and promising drug in cancer research. However, their high toxicity complicates their utilization at higher therapeutic doses and thus, the treatment of solid tumor entities is more difficult. Therefore, this work presents a novel approach to address this problem. Metal-organic frameworks (MOFs) were introduced as a drug delivery system for arsenic-based drugs for the first time. On the basis of precisely developed loading strategies, high amounts of arsenic-based drugs have successfully been integrated postsynthetically *via* coordinate bonds into the framework of the three different MOFs, namely MFU-4l, Zn-MOF-74 and ZIF-8. These model examples of MOF-based drug delivery systems clearly outperform all ATO drug delivery systems reported in literature so far with respect to the essential criteria: Besides a high drug loading capacity, they also enable a convenient pH-triggered drug release. In addition, promising results have been obtained in first *in vitro* cytotoxicity studies. Furthermore, the first model example of a MOF-based theragnostic agent, namely Fe₃O₄-ZIF-8, for arsenic-based drugs was developed and characterized. This turned out to be a suitable pH-sensitive drug delivery system and at the same time an effective contrast agent for magnetic resonance imaging. The insights gained from this work expand the existing knowledge on the treatment of solid tumor entities and thus, represent an important progress in the development of alternative therapies in cancer research.

Abkürzungsverzeichnis

1D	Eindimensional
3D	Dreidimensional
APL	Akute Promyelozyten Leukämie
As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	arsenhaltiges Fe ₃ O ₄ -ZIF-8
As@ZIF-8	arsenhaltiges ZIF-8
ATO	Arsentrioxid
ATR	Attenuated Total Reflection
ATRT	Atypischer teratoider/rhabdoider Tumor
ATRT-311-FHTC	311-FHTC ATRT-Zelllinie
ATRT-CHLA-02	CHLA-02 ATRT-Zelllinie
a.u.	arbitrary unit
BET	Brunauer-Emmett-Teller
BT12	BT12 ATRT-Zelllinie
BT16	BT16 ATRT-Zelllinie
bzw.	beziehungsweise
calc.	berechnet
CNR	Contrast-to-noise Ratio
CSD	Cambridge Structural Database
CPO	Coordination Polymer of Oslo
DDS	Drug Delivery System
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DMAA	Dimethylarsensäure
DMEM/F12	Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
EDX	Energie Dispersive X-Ray
EGF	Epidermal Growth Factor
EMA	European Medicines Agency
EPR	Enhanced Permeability and Retention

ESEM	Environmental Scanning Electron Microscope
EtOH	Ethanol
FBS	Fetal Bovine Serum
FDA	US Food and Drug Administration
Fe ₃ O ₄ -MOF	Kern-Schale Nanopartikel mit Fe ₃ O ₄ -Kern und MOF-Schale
Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	Kern-Schale Nanopartikel mit Fe ₃ O ₄ -Kern und ZIF-8-Schale
FGF	Fibroblast Growth Factor
FSL	Fractional Signal Loss
FT-IR	Fourier Transform Infrared
Gew.-%	Gewichtsprozent
H ₂ -BTDD	bis(1H-1,2,3-triazolo[4,5-b],[4',5'-i]dibenzo[1,4]dioxin)
HKUST	Hong Kong University of Science & Technology
IC ₅₀	Half-maximal Inhibitory Concentration
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy
ICSD	Inorganic Crystal Structure Database
meas.	gemessen
MeOH	Methanol
MFU	Metal-organic Framework Ulm University
MFU-4l-OAs(OH) ₂	arsenhaltiges MFU-4l
MMAA	Monomethylarsonsäure
MOF	Metal-Organic Framework
MOF-74	Metal-Organic Framework-74
MRT	Magnetresonanztomographie
MSN	Mesoporöse Siliciumdioxid-Nanopartikel
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide
NLDFT	Non Local Density Functional Theory
PEG	Polyethylenglykol
PEG@MFU-4l-OAs(OH) ₂	arsenhaltiges, mit PEG beschichtetes MFU-4l
PEG-NH ₂	Amino-funktionalisiertes Polyethylenglykol
PEG-NH ₂ @As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	arsenhaltiges, mit PEG-NH ₂ beschichtetes Fe ₃ O ₄ -ZIF-8
PEG-NH ₂ @As@ZIF-8	arsenhaltiges, mit PEG-NH ₂ beschichtetes ZIF-8

ppm	Parts per Million
RT	Raumtemperatur
SBU	Secondary Building Unit
S.E.M.	Standard Error of the Mean
SPIOs	Superparamagnetic Iron Oxide
SQUID	Superconducting Quantum Interference Device
SSA	Specific Surface Area
STEM	Scanning Transmission Electron Microscope
STR-PCR	Short Tandem Repeats-Polymerase Chain Reaction
TEA	Triethylamin
TEM	Transmissionselektronenmikroskop
TGA	Thermogravimetrische Analyse
VTXRPD	Variable-Temperature X-Ray Powder Diffraction
WHO	World Health Organization
XRPD	X-Ray Powder Diffraction
ZIF-8	Zeolitic Imidazolate Framework-8
Zn-MOF-74	Zn-basiertes MOF-74

1. Motivation

Der medizinische Fortschritt der vergangenen Jahrhunderte ist zwar bemerkenswert, doch die Diagnose einer Krebserkrankung bringt Ärzte noch immer an ihre Grenzen.^[1] Häufig sind sie gezwungen den Patienten während den Therapien anfänglich zu schaden, ehe die Behandlung heilend wirkt.^[2] Die Entwicklung neuer, effizienter Medikamente spielt folglich eine sehr wichtige Rolle in der heutigen Forschung – doch auch eine gute, schnelle und genaue Analyse ist essenziell. Daher soll das bereits bestehende Wissen durch diese Dissertation vorangetrieben werden, um neuartige Behandlungsstrategien für hoch aggressive Tumorentitäten wie atypische teratoide rhabdoide Tumore (ATRT) entwickeln zu können. Da derartige Hirntumore fast ausschließlich bei Säuglingen und Kleinkindern unter drei Jahren auftreten und diese trotz intensiver, multimodaler Behandlungen im Regelfall sehr schlechte Prognosen haben, ist die Entwicklung neuer Therapien umso dringender erforderlich.^[3,4]

Als Inspiration dienen dabei die außerordentlichen Erkenntnisse und bahnbrechenden Errungenschaften von Dr. Paul Ehrlich, dem Nobelpreisträger für Physiologie oder Medizin 1908.^[5] Dieser leidenschaftliche Arzt und Wissenschaftler widmete sich bereits vor mehr als 100 Jahren der Entwicklung der Chemotherapie und hat dabei versucht, eine sogenannte „Zauberkegel“ (zu engl.: magic bullet) zu entwickeln.^[6] Diese sollte so konzipiert sein, dass sie „chemisch zielt“ – sprich selektiv erkranktes Gewebe abtötet, während gesundes Gewebe unbeeinträchtigt bleibt. Durch harte, systematische Arbeit konnte Dr. Paul Ehrlich zeigen, dass bestimmte chemische Substanzen tatsächlich besondere Affinitäten gegenüber pathogenen Organismen haben und dass sogar äußerst unkonventionelle Substanzen wie hochtoxische, synthetische Arsenverbindungen als Arzneimittel geeignet sind.^[7]

Könnte eine derartig ungewöhnliche Strategie also auch bei der Behandlung von soliden Krebsentitäten von Nutzen sein?

In der Tat haben arsenhaltige Verbindungen wie Arsentrioxid (ATO) eine faszinierende Geschichte in der Medizin. Obwohl sie als Medikament in der traditionellen chinesischen Heilkunde gut bekannt und weit verbreitet waren, so waren sie im Mittelalter und in der Renaissance eher als „König der Gifte“ denn als Heilmittel bekannt.^[8] Es hat viele Jahrzehnte gedauert, bis ihr medizinischer Nutzen wiederentdeckt wurde.^[9] Erfreulicherweise konnten *in vitro* und *in vivo* Studien bestätigen, dass ATO ein wirksamer Wirkstoff bei der Behandlung verschiedener solider Tumorentitäten wie ATRTs ist. Dennoch ist es eine enorme Herausforderung eine therapeutische Wirksamkeit mit ATO zu erzielen, da es aufgrund seiner hohen Toxizität in höheren Dosierungen zahlreiche negative

Nebenwirkungen verursachen und den Patienten dadurch schwere Schäden zufügen würde. Um die Pharmakokinetik von ATO zu verbessern und die toxischen Nebenwirkungen zu verringern, wäre daher die Einlagerung von ATO in einem Wirkstoff-Trägermaterial, einem sogenannten Drug Delivery System (DDS), von Vorteil. Ermutigt originelle Fortschritte in der Übertragung der positiven Erkenntnisse mit arsenhaltigen Wirkstoffen in der Behandlung von ATRTs zu machen, werden daher in dieser Dissertation Metall-organische Gerüstverbindungen (zu engl.: *Metal-Organic Frameworks* = MOFs) auf ihre Eignung als DDS untersucht.

Die recht junge Materialklasse der MOFs ist seit den 90er Jahren sprichwörtlich explodiert.^[10] Nachdem die Synthese von MOFs vereinfacht gesagt auf einem „Baukastenprinzip“ mit anorganischen (Metallzentren) und organischen (Ligand) „Bausteinen“ basiert (**Abbildung 1.1**), die miteinander kristalline, poröse 3D-Netzwerke ausbilden, lag der Fokus der Forschung zunächst vorwiegend auf der Synthese und Charakterisierung neuartiger Strukturen. Doch mittlerweile wächst zunehmend das Interesse an der gezielten Herstellung von smarten MOFs mit exotischen, funktionellen Eigenschaften.^[11,12] Demzufolge haben MOFs in unzähligen Bereichen wie Adsorption,^[13,14] Katalyse,^[15,16] Sensorik^[17,18] oder auch der Medizin Anwendung gefunden.^[19,20] Aufgrund der derart rasanten Zunahme an neuen Strukturen und innovativen Anwendungsmöglichkeiten wird im Moment vermutlich nicht annähernd das ganze Potential der bereits bestehenden, unzähligen MOF-Strukturen ausgeschöpft.

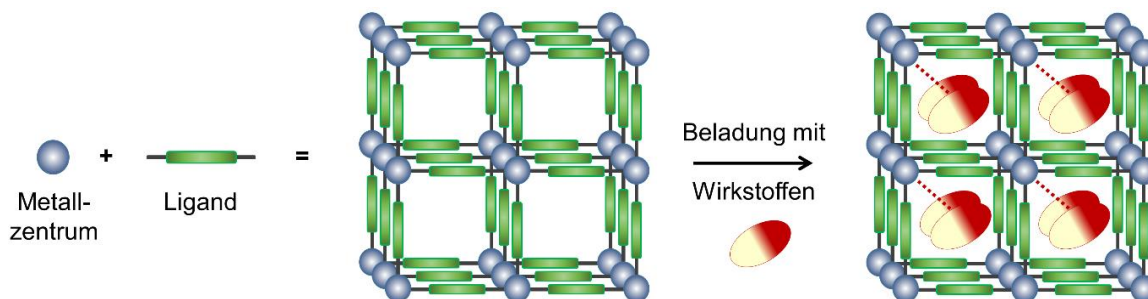


Abbildung 1.1: Vereinfachte Darstellung der Zusammensetzung eines MOFs aus Metallzentren (blau) und Ligandenmolekülen (grün) und deren Beladung mit Wirkstoffen.

Daher sollen einige bereits bestehende MOF-Strukturen als Modellbeispiele nochmals sorgfältig im Hinblick auf ihr Potential als DDS analysiert werden. In diesem sehr wenig erforschten Anwendungsbereich wurde bisher lediglich versucht, Wirkstoffe in die verfügbaren Poren der 3D-Netzwerkstruktur von MOFs einzulagern. Die einzigartige Möglichkeit, Wirkstoffe direkt durch koordinative Bindungen an zugängliche Koordinationsstellen einer MOF-Struktur in das Netzwerk zu integrieren, wurde bisher nicht

erforscht (**Abbildung 1.1**). Dabei ist ebendies im Falle von hochtoxischen Wirkstoffen wie ATO die ideale Gelegenheit, um bei der Anwendung im menschlichen Körper einen sicheren Transport bis zum erwünschten Gewebe sicherzustellen. Zudem wäre je nach Art der Bindung des Wirkstoffes an den MOF eine gezielte Freisetzung des Wirkstoffes infolge eines externen Auslösers, wie eine pH- oder Temperaturänderung, möglich. Aufgrund ihrer guten biologischen Abbaubarkeit und theoretisch sehr hohen Beladungskapazität, sowohl in den Poren als auch an den Koordinationsstellen im porösen Netzwerk, repräsentieren MOFs alles in allem ein äußerst elegantes DDS. Demnach könnte die Herstellung von arsenhaltigen MOF-Nanopartikeln mit einer Gesamtgröße von weniger als 100 nm einen vielversprechenden Ansatz für eine effektive Behandlung von ATRTs darstellen.

Bei der Verwendung eines derart toxischen Wirkstoffes wie ATO wäre allerdings die Einbettung eines zusätzlichen Kontrollelements in die arsenhaltigen MOF-Nanopartikel erstrebenswert, um die Partikel im menschlichen Körper nachverfolgen zu können. Die Idee eines solchen multifunktionalen DDS, das Therapie und Diagnose in sich vereint, wird tatsächlich mehr und mehr in der Nanomedizin untersucht. Die sogenannte Theragnostik oder auch personalisierte Medizin ist sehr vielversprechend, da sie sowohl eine gezieltere sowie effizientere Behandlung der Patienten als auch eine Reduzierung der klinischen Kosten und Ressourcen ermöglichen würde.^[21,22] Daher wird diese heutzutage häufig sogar als der „Heilige Gral der modernen Medizin“ bezeichnet.^[23]

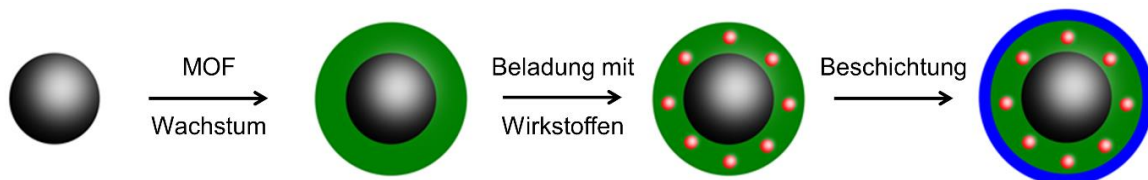


Abbildung 1.2: Aufbauprinzip von Kern-Schale-Nanopartikeln für die Anwendung als DDS: Magnetischer Kern (schwarz), MOFs als Schale (grün), eingelagerter Wirkstoff (rot) und schützende Polymer-Beschichtung (blau).

Insbesondere bei der Behandlung onkologischer Erkrankungen, wo innovative therapeutische Herangehensweisen dringend benötigt werden, wäre eine derartige nahtlose Verbindung von Therapie, Diagnose und Überprüfung des Ansprechens auf die Behandlung in einem einzigen System ein großer Fortschritt. Nachdem sich superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (zu engl.: Superparamagnetic Iron Oxide = SPIOs, Fe_3O_4) bereits erfolgreich als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie (MRT) etabliert haben, wäre deren Einbettung in das DDS zur Gewinnung von diagnostischen Informationen äußerst erfolgversprechend (**Abbildung 1.2**).^[24] Zudem werden häufig zusätzliche Polymer-Beschichtungen verwendet, um Parameter wie die

Stabilität, die Dispergierbarkeit und die Bioverträglichkeit von DDS, wie MOFs oder auch Kern-Schale-Nanopartikeln, für *in vivo* Anwendungen zu verbessern.

Motiviert die Entdeckung des idealen DDS voranzutreiben, soll daher im Rahmen dieser Dissertation erforscht werden, ob sich MOF-basierte Nanopartikel mit und ohne eingebettete Eisenoxid-Nanopartikel für die Verabreichung von arsenhaltigen Wirkstoffen als alternative Behandlungsmethode von soliden Tumorentitäten eignen würden.

2. Stand der Forschung

In den nachfolgenden Kapiteln wird der gegenwärtige Stand der Forschung kurz skizziert, wobei zunächst auf verschiedene wichtige Aspekte wie die Krebstherapie (**Kapitel 2.1**), arsenhaltige Medikamente in der Krebstherapie (**Kapitel 2.2**), Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs) (**Kapitel 2.3**), superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIOs, Fe_3O_4) als Theragnostikum (**Kapitel 2.4**) und abschließend auf Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel als Theragnostika eingegangen wird (**Kapitel 2.5**).

2.1. Krebstherapie - Von der konventionellen Therapie zur Theragnostik

Laut der Weltgesundheitsorganisation ist Krebs die zweithäufigste Todesursache.^[25] Jede Krankheit, die sich durch ein abnormales, unkontrollierbares und schnelles Zellwachstum in irgendeinem Teil des Körpers auszeichnet, wird dabei dem Oberbegriff Krebs zugeordnet.^[25] Eine besonders gefährliche und hoch aggressive Krebsart sind die so genannten atypischen teratoiden rhabdoiden Tumore (ATRT). ATRTs sind solide Hirntumor-Entitäten, die bei Säuglingen und Kleinkindern unter drei Jahren auftreten und eine schlechte Behandlungsprognose haben.^[3,4] Ein Hauptproblem bei der Behandlung von ATRTs ist die Tatsache, dass eine konventionelle Krebstherapie einschließlich Operation, Bestrahlung und Chemotherapie bei so jungen Patienten nicht durchführbar oder teilweise sogar gesetzlich verboten ist. Darüber hinaus ist die Dosierung von Medikamenten zur Behandlung solider Tumorentitäten ohnehin problematisch: Einerseits werden ausreichend hohe Konzentrationen benötigt, um den erwünschten therapeutischen Effekt zu erzielen, und andererseits sind Dosiserhöhungen meist nur recht begrenzt möglich, da die hohe Toxizität der Medikamente in der Regel schwerwiegende Nebenwirkungen zur Folge hat.

Die Forschung im Bereich der Nanomedizin hat jedoch gezeigt, dass der Einsatz von nanoskaligen Wirkstoff-Trägermaterialien, den sogenannten Drug Delivery Systemen (DDS) eine Möglichkeit ist, diese Problematik zu überwinden. Durch die Einlagerung in einem DDS wird der Wirkstoff vor einem vorzeitigen Abbau oder vor Wechselwirkungen mit seiner Mikroumgebung geschützt.^[26] Zudem kann eine bessere Kontrolle der Pharmakokinetik und der Wirkstoff-Freisetzung erzielt werden, denn mit Hilfe von DDS kann das abnormale Zellwachstum von Tumorgewebe, das zu strukturellen und physiologischen Zelldefekten führt, als Vorteil genutzt werden.^[26,27] Die dort erhöhte Durchlässigkeit oder Hyperpermeabilität hat zur Folge, dass sich nanoskalige Partikel aufgrund des „Enhanced Permeability and Retention“-Effekt („EPR“-Effekt) im Tumorgewebe anreichern.^[27] Dieser „passive“ Mechanismus, das sogenannte „passive targeting“, stellt damit eine äußerst elegante Möglichkeit dar, eine gezielte Wirkstoff-Trägereinlagerung im Tumorgewebe zu

erreichen (**Abbildung 2.1**). Dadurch kann gesundes Gewebe geschont und eine unnötige Belastung des Patienten vermieden werden.

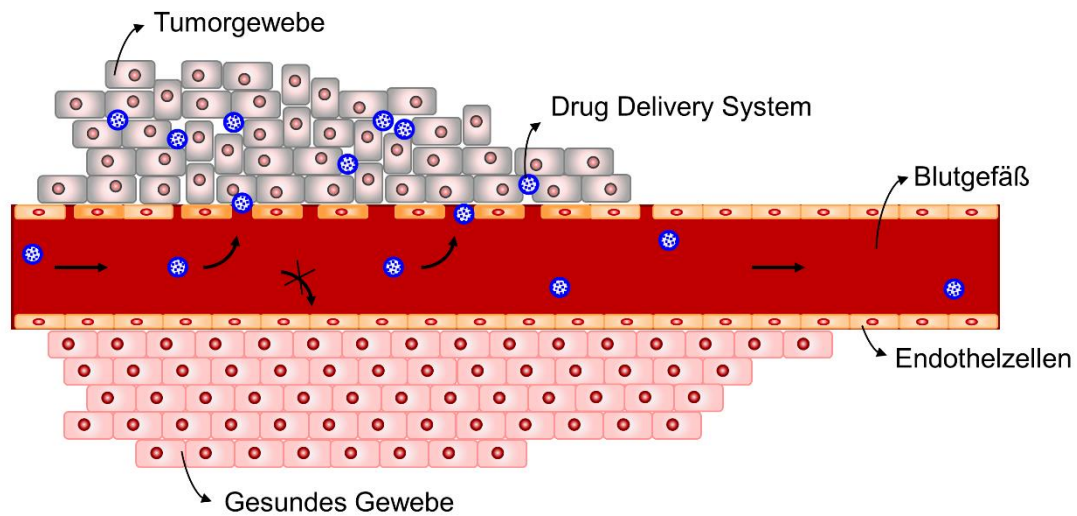


Abbildung 2.1: Passive Wirkstoffträgereinlagerung im Tumorgewebe über den EPR-Effekt.

Um systematische Nebenwirkungen und Überdosierungen der eingelagerten Wirkstoffe wirksam zu verhindern und gleichzeitig ihre therapeutische Wirkung zu erhalten,^[28,29] sollten DDS einige Anforderungen erfüllen: Sie müssen nanoskalige (< 200 nm), biokompatible und gut erforschte Materialien darstellen, die zudem eine hohe Einlagerungsrate in Tumorzellen, eine niedrige Aggregationsrate sowie eine lange Haltbarkeit besitzen.^[26,30] Zusätzlich spielt bei der Auswahl eines DDS für die Behandlung von soliden Tumorentitäten eine günstige pH-abhängige Materialstabilität eine große Rolle, da die Mikroumgebung von Tumor- und gesundem Gewebe zwei verschiedene pH-Werte aufweist (pH 6 bzw. pH 7,4).^[31] Bisher haben sich verschiedenste Materialien als geeignete DDS herausgestellt: Kohlenstoff-Nanoröhrchen,^[32] Dendrimere,^[33] Eisenoxid-Nanopartikel,^[34] Gold-Nanopartikel,^[35] Liposome,^[36] mesoporöse Siliziumdioxid-Nanopartikel,^[37] Mizellen^[38] und Quantenpunkte.^[29,39] In jüngster Zeit haben sich zudem auch Metall-organische Gerüstverbindungen (MOFs) als ein vielversprechendes Wirkstoff-Trägermaterial erwiesen.^[40]

Seit 2002 wird die Herstellung von multifunktionalen DDS, die therapeutische und diagnostische Funktionalitäten in sich vereinen, forciert.^[22,41] Passend zu dieser Verschmelzung wird auch deren gebräuchliche Bezeichnung Theragnostika abgeleitet: *Therapie* und *Diagnostik*.^[22,42] Das übergeordnete Ziel ist es dabei, ein System zu erschaffen, das geeignet ist, das erkrankte Gewebe abzubilden, es zu behandeln und zudem die therapeutische Entwicklung zu überwachen.^[43] Theragnostika stellen einen erfolgversprechenden, neuartigen Ansatz zur Behandlung von onkologischen

Erkrankungen wie ATRTs dar, weil sie sowohl eine verbesserte Patientenfreundlichkeit als auch die Einsparung klinischer Kosten und Ressourcen ermöglichen könnten.^[21,26,44]

2.2. Arsenhaltige Wirkstoffe in der Krebstherapie

Arsenhaltige Verbindungen wie Arsentrioxid (ATO, As_2O_3) sind als zweischneidiges Schwert bekannt: Zum einen stellen sie ein berüchtigtes Gift dar, zum anderen werden sie als Medikament in der Krebstherapie eingesetzt. Trotz der Wiederentdeckung der therapeutischen Wirksamkeit von ATO und erster positiver Forschungsergebnisse,^[45–47] hat sich die Entwicklung von arsenhaltigen Wirkstoffen und deren Zertifizierung als Medikament aufgrund ihrer hohen Toxizität jedoch als äußerst problematisch herausgestellt.^[48]

Im Jahre 1786 wurde erstmals über die heilende Wirkung der sogenannte *Fowlerschen Lösung*, einer Lösung der anorganischen Verbindung KAsO_2 , bei der Behandlung von Kopfschmerzen und Fieber berichtet.^[49] Von da an wurden arsenhaltige Verbindungen mit steigendem Interesse auf deren medizinische Nutzbarkeit untersucht und 1863 wurde die elementorganische Verbindung *Atoxly* (*p*-Arsanilsäure: $\text{H}_2\text{O}_3\text{AsC}_6\text{H}_4\text{NH}_2$) für die Behandlung von Blutarmut und Hauterkrankungen entdeckt.^[50]

Im Jahre 1910, ist Dr. Paul Ehrlich die gezielte Herstellung und Markteinführung der arsenhaltigen Substanz *Salvarsan* als Therapeutikum bei der Behandlung von Syphilis gelungen.^[7] Dessen Name setzt sich aus den lateinischen Worten *salvare* und *sanus*, was heilen bzw. gesund bedeutet, sowie dem Wort Arsen zusammen und somit ergibt sich „Heilarsen“. Chemisch betrachtet stellt *Salvarsan* eine Mischung aus der trimeren und pentameren Form der elementorganische Verbindungen Arsphenamin mit der Summenformel $\text{As}_3(\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2\text{OH})_3$ (Trimer, **Abbildung 2.2a**) bzw. $\text{As}_5(\text{C}_6\text{H}_3\text{NH}_2\text{OH})_5$ (Pentamer, **Abbildung 2.2b**) dar.^[51]

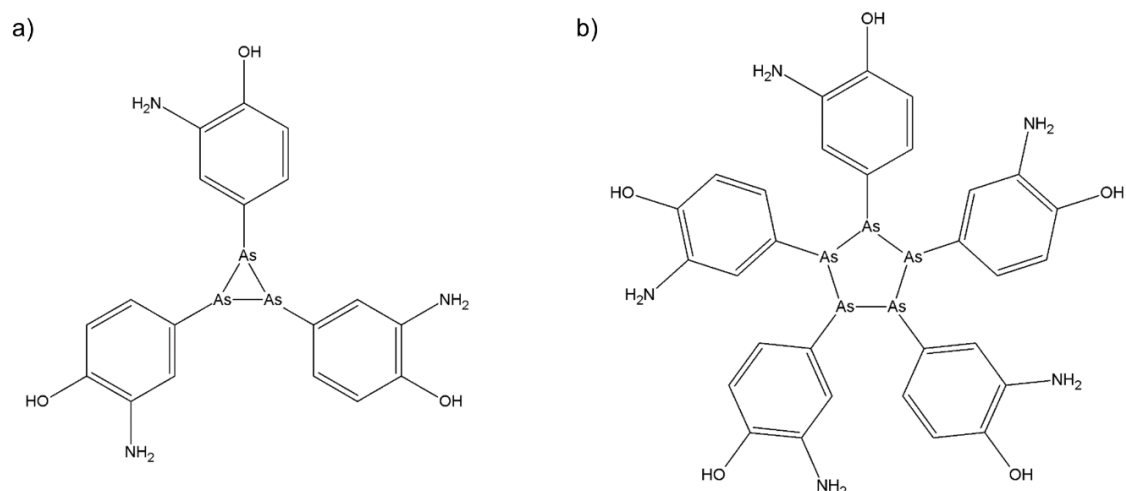


Abbildung 2.2: Darstellung von Arsphenamin in seiner (a) trimeren und (b) pentameren Form.

Fast ein Jahrhundert später wurden dann die medizinischen Vorteile der rein anorganischen Verbindung Arsentrioxid As_2O_3 wiederentdeckt.^[8] Das farb- und geruchlose Pulver liegt in der Natur entweder in Form von hochmolekularem, monoklinem Claudetit (**Abbildung 2.3a** und **b**) oder in Form von niedermolekularen, kubischen Kristallen aus As_4O_6 -Einheiten vor (**Abbildung 2.3c**).^[52] Es ist in Wasser mäßig löslich und in Abhängigkeit des pH-Wertes entstehen verschiedene anionische As(III)-Spezies – H_2AsO_3^- ($\text{pK}_{\text{A}1} = 9.22$), HAsO_3^{2-} ($\text{pK}_{\text{A}2} = 12.10$) und AsO_3^{3-} ($\text{pK}_{\text{A}3} = 13.40$).^[52,53] Wird eine wässrige Lösung von As_2O_3 eingedampft, so erhält man das Anhydrid der Arsenigen Säure (H_3AsO_3) As_2O_3 in Form von As_4O_6 -Einheiten.^[52]

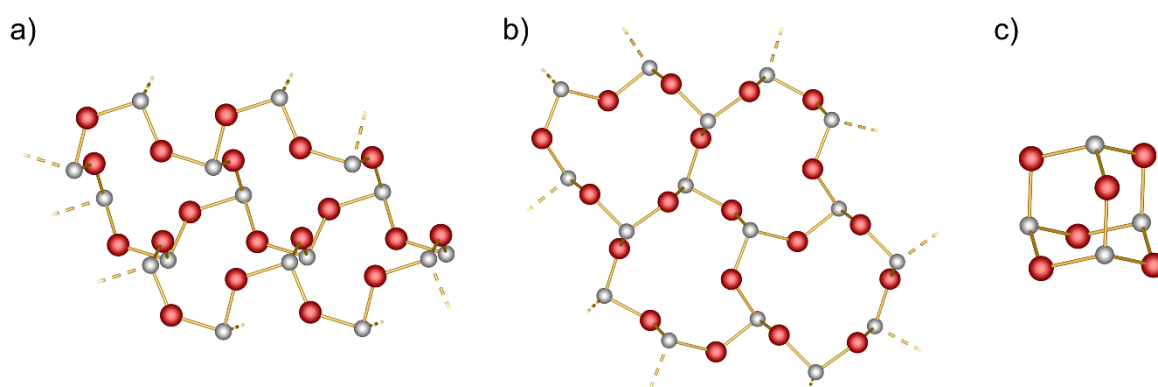


Abbildung 2.3: Strukturen von As_2O_3 (a) Claudetit I (ICSD: 100434), (b) Claudetit II (ICSD: 4108) und eine As_4O_6 -Einheit (ICSD: 36144; As: grau, O: rot).

Um weitere therapeutische Fortschritte mit arsenhaltigen Wirkstoffen zu ermöglichen, ist eine Betrachtung des Mechanismus der Arsen-induzierten Toxizität essenziell. Im Hinblick auf den Arsen-Stoffwechsel und seine Auswirkungen auf den menschlichen Körper wurden zwar bereits intensive Untersuchungen durchgeführt, es konnten bis dato aber lediglich die ersten Schritte aufgeklärt werden. Bereits 1945 hat Frederick Challenger die Pionierarbeit dazu geleistet.^[54] Er suggerierte, dass anorganische Arsen-Verbindungen hierbei eine Abfolge von alternierenden Reaktionen durchlaufen: Zunächst findet eine Reduktion von As(V)- zu As(III)-Verbindungen statt und im Anschluss ein Methylierungs-Prozess.^[54] Neuere Untersuchungen haben diese Befunde bestätigt und gezeigt, dass die entstehenden As(III)- und As(V)-Verbindungen unterschiedliche zytotoxische Wirkungen verursachen (**Abbildung 2.4**).^[55,56] In mehreren Studien konnte nachgewiesen werden, dass vor allem die intermediären As(V)-Verbindungen, die Monomethylarsensäure (MMAA(V)) und die Dimethylarsensäure (DMAA(V)), zügig renal ausgeschieden werden.^[55] Daher werden diese als etwas weniger kritisch für den menschlichen Körper eingestuft.^[55,57] Im Gegensatz dazu zeigen As(III)-Verbindungen eine hohe Affinität zu Sulfhydrylgruppen und können sich deswegen stark an bestimmte Enzyme binden. Insbesondere die Methylierung der As(III)-Verbindungen scheint deren Reaktivität enorm zu erhöhen.^[55]

Infolgedessen blockieren sie die Redox-Regulation in den Zellen und töten diese somit ab.^[56,58] Ebendies ist die grundlegende Ursache dafür, dass Arsen-Verbindungen derart toxisch und krebserregend für den menschlichen Organismus sind.^[9] Die ermittelte tödliche Dosis für ATO liegt bei einer Menge von nur 15 mg/kg (ermittelt für Ratten bei oraler Aufnahme).^[59]

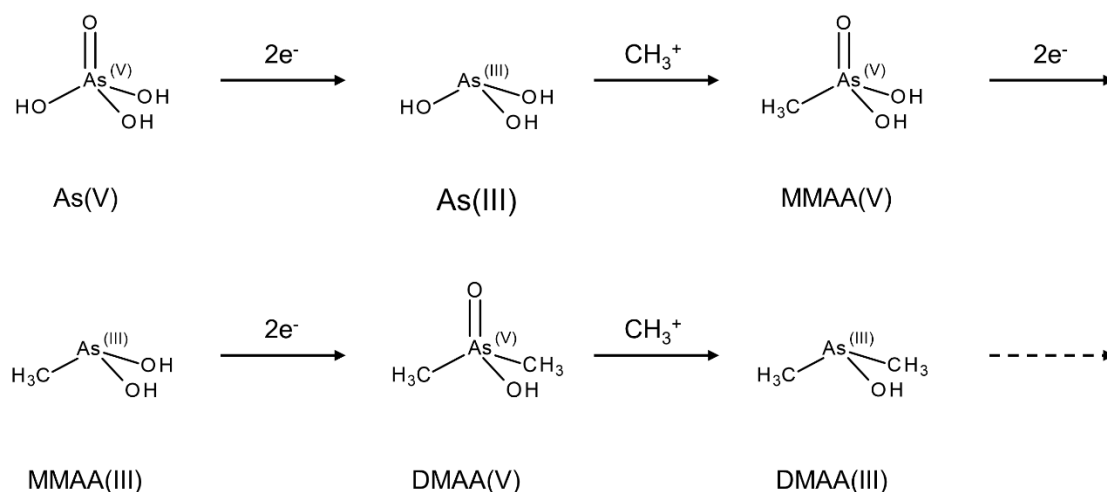


Abbildung 2.4: Arsen-Metabolismus im menschlichen Körper.^[56]

Exakt diese Eigenschaft von Arsen-Verbindungen kann zu einem Vorteil umgekehrt werden: In der richtigen Dosis und an der richtigen Stelle angewendet, können sie als Heilmittel wirken. Insbesondere in der Krebstherapie, wo therapeutische Alternativen dringend benötigt werden, sind die Vorteile von Arsenverbindungen erkannt worden.^[45,46,60] Im Jahr 2000 erhielt ATO von der amerikanischen Gesundheitsbehörde FDA (Food and Drug Administration) die Zulassung als Medikament zur Behandlung der akuten promyelozytären Leukämie (APL)^[9] – einer Krebserkrankung der weißen Blutkörperchen. Im Jahr 2016 erweiterte die Europäische Arzneimittelagentur (EMA) diese Zulassung auf die Behandlung von neu diagnostizierter APL.^[61] Die Behandlungsstrategie ist dabei relativ simpel: ATO wird in einer Kochsalzlösung gelöst und in eine Vene injiziert. Da die Menge des verabreichten Arzneimittels direkt mit der Arzneimittelkonzentration im Blut korreliert, stellt die Regulierung der Arzneimitteldosierung bei der Behandlung von APL also kein Problem dar. Folglich kann das Medikament unkompliziert in denjenigen Konzentrationen verabreicht werden, die für den gewünschten therapeutischen Effekt benötigt werden. Studien zur Aufklärung des Wirkmechanismus von ATO bei der Behandlung von APL haben gezeigt, dass auch in diesem Fall vor allem die methylierten As(III)-Verbindungen einen signifikanten Einfluss auf die Induktion der Apoptose – einer Form des sogenannten programmierten Zelltodes – in APL-Zellen haben.^[55]

Mehrere *in vitro* und *in vivo* Studien haben gezeigt, dass ATO auch ein wirksames Mittel gegen verschiedene solide Tumorentitäten sein könnte, doch die Übertragung dieser positiven therapeutischen Ergebnisse auf die Behandlung von Hirntumoren, Brustkrebs und Gebärmutterhalskrebs hat sich als sehr schwierig erwiesen und war bisher nicht erfolgreich.^[62–64] Nach der intravenösen Injektion des Medikaments reichert sich höchstwahrscheinlich nur eine unzureichende Menge im Tumorgewebe an. Die logische Konsequenz wäre demnach eine höhere verabreichte Menge an ATO, was aber aufgrund der hohen Toxizität und der schwerwiegenden Nebenwirkungen ausgeschlossen ist. Wie bereits in **Kapitel 2.1** beschrieben, scheint der Einsatz von DDS hierbei eine vielversprechende Lösung zu sein, um die Pharmakokinetik und therapeutische Wirksamkeit von ATO zu verbessern.^[28,29] Bisher sind aber nur wenige verschiedene Materialien als Wirkstoff-Trägermaterialien für arsenhaltige Wirkstoffe untersucht worden.^[45] Hierbei sind hauptsächlich Verkapselungsstrategien von ATO durch Liposome oder auch Polymere zu nennen.^[45] In manchen Fällen wurde ATO auch zunächst mit verschiedenen Nanopartikeln, wie beispielsweise mesoporösen Siliciumdioxid- oder Magnetit-Nanopartikeln, kombiniert und dann mit einem Polymer beschichtet.^[45] Bei all diesen Ansätzen wurde eine Verbesserung der Pharmakokinetik somit lediglich durch die Hemmung der Wechselwirkung zwischen ATO und dessen Mikroumgebung durch die jeweilige Beschichtung ermöglicht. Folglich wurde ATO dabei nicht durch kovalente Bindungen in das jeweilige Wirkstoff-Trägermaterial integriert, sondern nur über nichtkovalente Wechselwirkungen immobilisiert. In **Tabelle 2.1** ist eine Auswahl der verschiedenen in der Literatur bekannten ATO-Wirkstoff-Trägermaterialien dargestellt: Dazu gehören Liposome,^[63] magnetische Polymilchsäure-Hybrid-Nanopartikel,^[65] mit Polyacrylsäure beschichtete mesoporöse Siliciumdioxid-Nanopartikel (MSN)^[66] und Magnetit-dotierte mesoporöse Siliciumdioxid-Nanopartikel.^[67] Zwar wird bei den beiden Letzteren durch eine Funktionalisierung der Oberfläche mit Amino- bzw. Thiolgruppen die Aufnahme von ATO erhöht, doch auch in diesen Fällen wird keine kovalente Bindung zwischen ATO und dem entsprechenden Trägermaterial erreicht.^[66,67]

Tabelle 2.1: Ausgewählte ATO-Wirkstoff-Trägermaterialien aus der Literatur.

Wirkstoff-Trägermaterial	As ₂ O ₃ Beladung (mg / 1 g)
Liposome ^[63]	69
Magnetische Polymilchsäure-Hybrid-Nanopartikel ^[65]	78 – 139
Polyacrylsäure beschichtete MSN ^[66]	35
Magnetit-dotierte MSN ^[67]	111

Aus der Übersicht der bisher untersuchten Wirkstoff-Trägermaterialien in **Tabelle 2.1** wird ersichtlich, dass die jeweiligen ATO-Beladungen unter Berücksichtigung der Gesamtmenge des verwendeten Trägermaterials nicht allzu hoch sind. Ein äußerst wichtigster Aspekt, nämlich eine effiziente Wirkstoff-Beladung, ist demnach bei all diesen Trägermaterialien nicht besonders günstig. Darüber hinaus wird bei einer Untersuchung ihrer jeweiligen ATO-Freisetzungskinetiken deutlich, dass auch diese nicht optimal sind. Zwar weisen die Trägermaterialien teilweise eine etwas schnellere Arsen-Freisetzung bei niedrigeren pH-Werten auf, doch eine gezielte Freisetzung aufgrund eines externen Auslösers, wie dem pH-Wert, ist nicht gewährleistet.^[66] Desweiteren ist dabei vor allem auffällig, dass die Freisetzung bei allen Trägermaterialien hauptsächlich innerhalb der ersten 24 h stattfindet und danach stagniert – und das auch, wenn die Freisetzung noch nicht abgeschlossen war.^[63,65,66] Für ein möglichst effektives Trägermaterial wäre jedoch eine vollständige Freisetzung des eingelagerten Wirkstoffes absolut erstrebenswert. Alles in allem sind die bisherigen ATO-Wirkstoff-Trägermaterialien nicht geeignet, um dessen therapeutische Wirksamkeit auch auf solide Tumorentitäten zu übertragen.

Die Verwendung von porösen Materialien wie MOFs als DDS stellt allerdings einen äußerst vielversprechenden Ansatz dar. Durch den Einsatz von MOFs wären zum einen höhere ATO-Beladungskapazitäten und zum anderen eine verbesserte Kontrolle über das ATO-Freisetungsverhalten durch koordinative Bindungen zwischen ATO und dem MOF-Netzwerk realisierbar. Daher werden MOFs und ihre charakteristischen Merkmale im nächsten Kapitel im Detail erläutert.

2.3. Metall-organische Gerüstverbindungen

Seit dem 18. Jahrhundert wurden mehr als 200 verschiedene mikro- und mesoporöse anorganische Gerüstverbindungen wie Zeolithe beschrieben.^[68] Seit den 1990er Jahren wurden dann auch Gerüstverbindungen entwickelt, die organische Anteile enthalten.^[12] Seitdem hat sich die Forschung auf dem Gebiet dieser anorganisch-organischen Hybridverbindungen, die eine Untergruppe der porösen Koordinationspolymere darstellen,^[11] rasch ausgeweitet.^[69] Im Jahre 1995 hat Omar M. Yaghi, ein Pionier auf diesem Gebiet, ihre heutige Bezeichnung geprägt: Metall-organische Gerüstverbindungen, zu engl.: *Metal-Organic Frameworks* = MOFs.^[70] Gemäß der IUPAC-Definition stellen MOFs Koordinationsnetzwerke mit organischen Liganden dar, die potenzielle Hohlräume enthalten.^[69,71,72] Aufgrund der enormen Geschwindigkeit neuer Entdeckungen wurden neuartige MOF-Strukturen einfach mit Trivial-Namen bezeichnet anstatt diese zu systematisieren. Dabei verwendeten die verschiedenen Forschungsgruppen entweder eine Nummerierung für die neuen MOFs (z.B. MOF-5)^[73] oder sie schufen eine Abkürzung für die Institution, in der ein MOF zum ersten Mal synthetisiert wurde (z.B. HKUST-1 = *Hong*

Kong University of Science and Technology – 1 oder MIL-53 = *Matériaux de l'Institut Lavoisier-53*).^[74,75] Das Fehlen systematischer Namen führte jedoch dazu, dass einige MOF-Strukturen, die von verschiedenen Gruppen gleichzeitig untersucht wurden, mehrere verschiedene Abkürzungen erhalten haben (z.B. MOF-74 = CPO-27, CPO = Coordination Polymer of Oslo).^[76,77]

Bei der näheren Betrachtung der Hauptmerkmale von MOFs und den daraus resultierenden Möglichkeiten wird deutlich, weshalb die Forschung auf dem Gebiet der MOFs buchstäblich explodiert ist. Jedes MOF wird durch seine charakteristische, sogenannte Secondary-Building-Unit (SBU) repräsentiert. Diese besteht aus isolierten Metallionen oder mehrkernigen Metallclustern (Knoten), die über koordinative Bindungen mit organischen Liganden zu einem porösen, dreidimensionalen Netzwerk miteinander verknüpft sind (Beispiele siehe **Abbildung 2.5**).^[12] Dabei weisen die organischen Liganden verschiedenste Eigenschaften auf: Sie können unterschiedlich lang, linear oder gebogen sein sowie O-Donatoren (Carboxylate) oder N-Donatoren (Pyrazolate, Imidazolate, Triazolate) sein. Folglich sind zahllose Kombinationen verschiedener Knoten- und Ligandengeometrien möglich, was zu einer immensen topologischen Vielfalt von MOFs führt. Im Jahre 2016 wurde die Anzahl der Einträge von MOFs in der Cambridge Structural Database (CSD) auf etwa 70 000 Materialien geschätzt.^[10] Diese enorme Vielfalt kann durch Funktionalisierung der verschiedenen organischen Liganden sogar noch weiter gesteigert werden.^[78,79] Infolgedessen ist es möglich, ein MOF-Netzwerk so zu gestalten, dass einerseits eine gewisse Nachgiebigkeit, Funktionalität und Reaktionsfreudigkeit durch die jeweiligen organischen Liganden und andererseits eine gewisse Steifheit und Regelmäßigkeit durch das dreidimensionale Netzwerk gegeben ist.^[80] Daher übertreffen MOFs andere, klassische poröse Materialien in vielen Aspekten und können aufgrund ihrer herausragenden funktionellen Eigenschaften in einem breiten Anwendungsspektrum eingesetzt werden. Hier sind vor allem Verwendungen in der Gasspeicherung und -abscheidung,^[13,81] in der Katalyse^[15,16] und Sensorik^[17,18] und neuerdings auch in der Medizin zu nennen.^[40,82]

Aufgrund ihrer großen Oberfläche, die eine enorme Wirkstoff-Beladungskapazität ermöglicht, der Möglichkeit zur zusätzlichen Liganden-Funktionalisierung und ihrer meist guten biologischen Abbaubarkeit scheinen MOFs tatsächlich die perfekte Wahl für ein DDS zu sein. Bisher wurde ausschließlich eine Wirkstoff-Einlagerung in den Poren von MOFs untersucht. Daher wurde das Medikament bei der Verabreichung einfach durch Diffusion aus dem Material freigesetzt, sodass keine effiziente und kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung erreicht werden konnte.^[83] Doch im Falle von hochtoxischen Wirkstoffen wie ATO wäre eine definierte Bindung zwischen Wirkstoff und Trägermaterial erstrebenswert, sodass eine sichere und kontrollierte Wirkstoff-Abgabe erreicht werden kann (**Abbildung 1.1**).

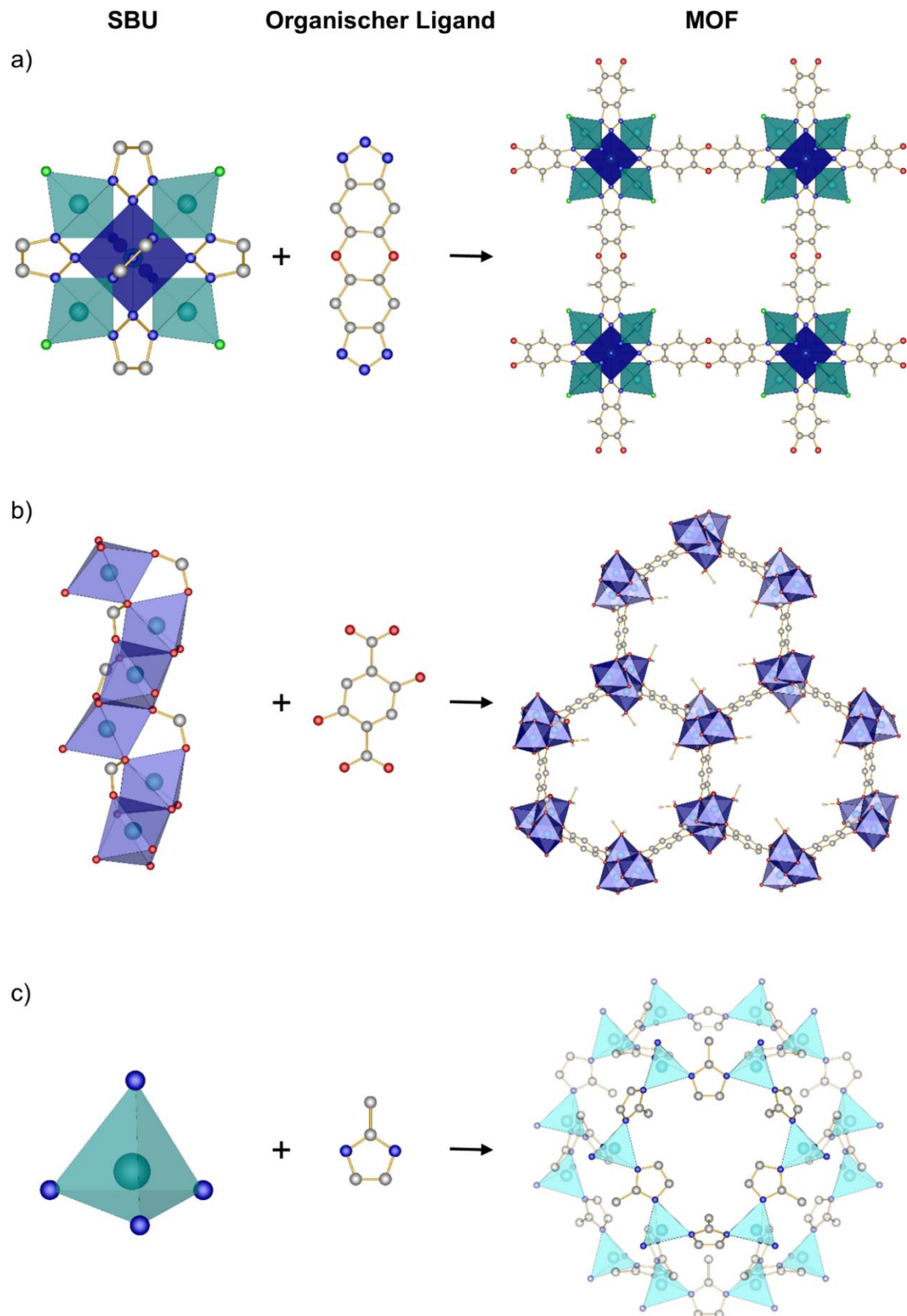


Abbildung 2.5: Kugel-Stab-Darstellung der SBUs und organischen Liganden verschiedener Zn-basierte MOFs: (a) Triazolat-basiertes MFU-4l,^[84] (b) Carboxylat-basiertes MOF-74,^[76] und (c) Imidazolat-basiertes ZIF-8^[85] (C: grau, Cl: grün, H: weiß, N: blau, O: rot, Zn: türkis; Zn-basierte Tetraeder: türkis, Zn-basierte Oktaeder: blau).

Um ein MOF-Netzwerk erfolgreich mit einem Wirkstoff wie ATO zu kombinieren, ist es unerlässlich, zunächst die Besonderheiten des jeweiligen MOFs genau zu untersuchen. Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse kann dann ein geeignetes ATO-Beladungskonzept auf das jeweilige MOF-Netzwerk abgestimmt werden.

Im Rahmen dieser Dissertation wurden ausschließlich Zn-basierte MOFs als Modellbeispiele untersucht: Das Triazolat-basierte MFU-4l (*Metal-Organic Framework UIm University-4/large*, **Abbildung 2.5a**),^[84] das Carboxylat-basierte Zn-MOF-74 (**Abbildung 2.5b**),^[76] und das Imidazolat-basierte ZIF-8 (*Zeolitic Imidazolate Framework-8*, **Abbildung 2.5c**).^[85] Im Folgenden werden ihre charakteristischen Merkmale unter besonderer Berücksichtigung ihrer möglichen Anwendung als DDS im Detail diskutiert.

MFU-4l besteht aus Zn(II)-Ionen und Bis(1H-1,2,3-triazolo[4,5-b],[4',5'-i])dibenzo[1,4]dioxin-Liganden und enthält $[\text{Zn}^0\text{Zn}^{\text{II}}_4\text{Cl}_4(\text{C}_{12}\text{N}_6\text{O}_2\text{H}_4)_6]$ -Einheiten (**Abbildung 2.5a**).^[84] In der Struktur mit der Raumgruppe $Fm\bar{3}m$ (Nr. 225) wird die SBU durch ein Zinkion in einer oktaedrischen Koordination (Zn^0) gebildet, das an sechs N-Donoratome von sechs verschiedenen Liganden gebunden ist, sowie durch vier periphere Zinkionen in einer tetraedrischen Koordination (Zn^{II}), die jeweils an drei N-Donoratome von drei verschiedenen Liganden gebunden sind. Die tetraedrische Koordinationsumgebung wird durch negativ geladene Chlorid-Liganden komplettiert. Frühere Arbeiten haben gezeigt, dass diese postsynthetisch gegen verschiedene kleine Moleküle wie Stickstoffmonoxid und Stickstoffdioxid ersetzt werden können.^[86,87] Das MFU-4l-Netzwerk besitzt zwei verschiedene Poren mit einem Durchmesser von 12 und 18,6 Å, die über kleine Öffnungen mit einem Durchmesser von 9,1 Å miteinander verbunden sind, wodurch eine spezifische Oberfläche von etwa 3600 m² g⁻¹ entsteht. In **Kapitel 5** wird der postsynthetische Seitenligandenaustausch mit As(III)-Spezies im Detail untersucht, da ein vollständiger Seitenligandenaustausch mit As(III)-Spezies in der Struktur von MFU-4l sowohl eine definierte Bindung zum Wirkstoff als auch eine sehr hohe Wirkstoff-Beladung aufweisen würde.

Zn-MOF-74 besteht aus Zn(II)-Ionen und 2,5-Dihydroxybenzol-1,4-dicarboxylat-Liganden und umfasst $[\text{Zn}_2(\text{C}_8\text{H}_2\text{O}_6)(\text{Lösungsmittel})_2]$ -Einheiten (**Abbildung 2.5b**).^[76] In der Struktur mit der Raumgruppe $R\bar{3}$ (Nr. 148), setzen sich diese Einheiten in Form einer 3D-Wabenstruktur zusammen, die 1D hexagonale Poren mit einer Porenöffnung von 14 Å enthält.^[88] Im frisch synthetisierten Material sind die Zn(II)-Ionen in der SBU oktaedrisch koordiniert: Sie bilden drei koordinierte Bindungen mit Carboxylatgruppen, zwei mit Phenolat-O-Atomen und die letzte mit einem Lösungsmittel-Molekül aus, das in die Kanäle hinein zeigt. Abhängig von den Synthesebedingungen kann dieses Lösungsmittel-Molekül beispielsweise Wasser oder DMF sein. Durch erhöhte Temperaturen und/ oder Hochvakuum können diese

Lösungsmittel-Moleküle nach der Synthese in der Regel jedoch leicht aus den 1D-Kanälen entfernt werden, ohne die MOF-Struktur zu beeinträchtigen. Das resultierende aktivierte mikroporöse Zn-MOF-74-Netzwerk weist eine spezifische Oberfläche von $1187 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ auf.^[89] Die hohe Dichte an zugänglichen Metallzentren innerhalb des Zn-MOF-74-Netzwerks, die für eine Bindung mit Gastmolekülen leicht zugänglich sind, könnte für die Wirkstoff-Einlagerung sehr nützlich sein. Daher wurde in **Kapitel 5.2** Zn-MOF-74 als Modellbeispiel für ein MOF mit zugänglichen Metallzentren für eine kontrollierte ATO-Beladung und -Freisetzung untersucht.

ZIF-8 besteht aus Zn(II)-Ionen und 2-Methylimidazol-Liganden und umfasst $[\text{Zn}(\text{C}_4\text{N}_2\text{H}_5)_2]$ -Einheiten (**Abbildung 2.5c**).^[85] In der Struktur mit der Raumgruppe $\bar{4}3m$ (Nr. 217) sind die Zn(II)-Ionen in der SBU tetraedrisch durch die N-Atome des Liganden koordiniert und bilden ein neutrales Netzwerk. Das ZIF-8-Netzwerk besitzt große Poren mit einem Durchmesser von $11,6 \text{ \AA}$, die durch kleine Öffnungen von $3,4 \text{ \AA}$ Durchmesser verbunden sind. Das aktivierte mikroporöse Material weist eine spezifische Oberfläche von $1630 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ auf und enthält theoretisch keine zugänglichen Metallbindungsstellen. Dennoch könnte ZIF-8 in seinen Poren eine hohe Wirkstoff-Beladungskapazität ermöglichen. Wenn man ZIF-8 als Drug Delivery System einsetzen will, hat es darüber hinaus noch einen weiteren großen Vorteil: Die Zn-N-Koordinationsbindungen im Netzwerk haben sich unter sauren Bedingungen als weniger stabil erwiesen und könnten daher eine pH-gesteuerte Wirkstoff-Freisetzung ermöglichen.^[90,91] In **Kapitel 5.3** und **5.7** wurde daher die postsynthetische Beladung von ZIF-8 und Fe_3O_4 -ZIF-8 mit As(III)-Spezies eingehend untersucht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass **MFU-4l**, **Zn-MOF-74** und **ZIF-8** einzigartige strukturelle Merkmale aufweisen, die eine Wirkstoff-Einlagerung ermöglichen könnten. Geeignete postsynthetische ATO-Beladungsstrategien wurden gemäß **Tabelle 2.2** entwickelt.

Tabelle 2.2: Übersicht der postsynthetische ATO-Beladungskonzepte für die verschiedenen MOF-Netzwerke.

MOF	Strukturelles Merkmal	ATO-Beladungskonzepte
MFU-4l	Zugängliches Metallzentrum	Seitenligandenaustausch durch H_2AsO_3^-
MOF-74	Zugängliches Metallzentrum	Bindung von H_3AsO_3 an Metallzentrum
ZIF-8	Neutrales, pH-sensitives Netzwerk	Ligandenaustausch durch H_2AsO_3^-

2.4. Superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel als Thera- gnostikum

Die Erforschung des Einsatzes von Nanopartikeln im biomedizinischen Bereich hat in den vergangenen Jahrzehnten enorm zugenommen.^[92] Um dort Verwendung zu finden, müssen diese zahlreiche Anforderungen erfüllen: Sie dürfen keinesfalls toxisch sein und sollten unter physiologischen Bedingungen stabil sein.^[93] Hierbei haben sich Eisenoxide als eine sehr wichtige Verbindungsklasse mit einer exzellenten bestätigten Bioverträglichkeit, einer geringen Toxizität und äußerst interessanten magnetischen Eigenschaften erwiesen.^[24,94] Die bekanntesten, in der Natur vorkommenden binären Eisen-Sauerstoff-Verbindungen sind Hämatit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$), Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) und Magnetit (Fe_3O_4).^[95]

Die beiden Letzteren stellen die weitverbreitetsten sogenannten superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikel (zu engl.: *Superparamagnetic Iron Oxide* = SPIOs) dar. Diese Art von Magnetismus ist maßgeblich von der Größe der Nanopartikel abhängig und tritt nur dann auf, wenn die Partikelgröße gleich groß oder kleiner als eine einzelne magnetische Domäne ist – d.h. im Falle dieser beiden Eisenoxide bei unter 25 nm. Nur dann kann sich die Magnetisierung M spontan in eine andere Richtung umkehren.^[24,94] Infolgedessen fällt die magnetische Sättigung M_s des superparamagnetischen Partikels nach dem Abschalten eines externen Magnetfeldes H auf Null ab und es verbleibt keinerlei Remanenz (**Abbildung 2.6a**).^[92,96] Auf Grund dieser besonderen magnetischen Eigenschaft eignen sich Maghemit ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) und Magnetit (Fe_3O_4) in Form von Nanopartikeln mit weniger als 25 nm Durchmesser ideal für vielfältige Anwendungen in der Biomedizin. Hierbei sind hauptsächlich die Verwendung von SPIOs in der Diagnostik als Kontrastmittel bei der Magnetresonanztomographie (MRT, **Abbildung 2.6b**) sowie deren Nutzung als Therapeutikum durch die magnetische Hyperthermie zu nennen.^[43]

Nachdem im Hinblick auf eine erfolgreiche Kombination von SPIOs und MOFs bisher fast ausschließlich Magnetit (Fe_3O_4) untersucht wurde,^[97,98] lag der Fokus auch im Rahmen dieser Arbeit auf der Herstellung und Charakterisierung von Fe_3O_4 -Nanopartikeln. Diese kristallisieren in einer inversen Spinellkristallstruktur mit der Raumgruppe $Fd\bar{3}m$ (Nr. 227), die sich durch eine andere Schreibweise der Summenformel wesentlich besser erkennen lässt: $\text{Fe}^{2+}(\text{Fe}^{3+})_2\text{O}_4$. Fe_3O_4 -Nanopartikel können über verschiedenste Synthesewege hergestellt werden, beispielsweise durch Präzipitations-Reaktionen, hydrothermale Reaktionen, Hochtemperatur-Reaktionen, Sol-Gel-Reaktionen, Polyol-Methoden, Fließinjektions-Synthesen, elektrochemische Methoden, Aerosol/Dampf-Methoden oder Sonolyse.^[96] Je nach Methode ist es möglich Fe_3O_4 entweder in Form einzelner Fe_3O_4 -Nanopartikel (< 25 nm) oder als sogenannte Fe_3O_4 -Nanopartikel-Cluster (Nanocluster mit einer Größe von 100-500 nm, bestehend aus einzelnen magnetischen Fe_3O_4 -Nanopartikeln

mit einer Partikelgröße von jeweils unter 25 nm) zu synthetisieren.^[96,99] Somit weisen sowohl die Fe_3O_4 -Nanopartikel als auch die sogenannten Fe_3O_4 -Nanocluster superparamagnetisches Verhalten auf und eignen sich daher hervorragend für medizinische Anwendungen.

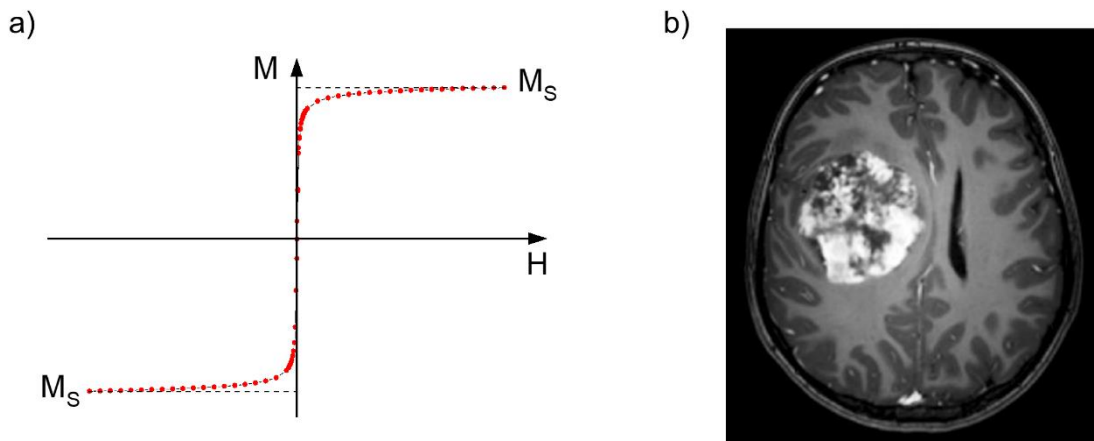


Abbildung 2.6: (a) Hysteresekurve von superparamagnetischen SPIOs (Fe_3O_4) und (b) T_2 -gewichtete MRT-Bild mit Fe_3O_4 als Kontrastmittel.^[100]

Wie bereits zuvor erwähnt, ist die Verwendung von Fe_3O_4 -Nanopartikeln als Kontrastmittel in der Magnetresonanztomographie (MRT) heutzutage als eine der wichtigsten Methoden für die medizinische Diagnostik zu nennen (**Abbildung 2.6b**).^[24] Dieses bildgebende Verfahren basiert auf der Kern-Spin-Resonanz bestimmter Atomkerne, die durch die Erzeugung starker Magnetfelder angeregt werden.^[101] Besonders im Falle von Tumoren empfiehlt sich dabei die Verwendung von organ- und gewebespezifischen Kontrastmitteln, um die Sensitivität der Methode zu verbessern.^[102] Dabei führen die einzelnen magnetischen Domänen in SPIOs zu einer signifikanten Abnahme der Spin-Spin- bzw. der transversalen Relaxationszeit T_2 und damit zu einer deutlichen Signalreduktion. Infolgedessen erscheinen aufgenommene T_2 -gewichtete MR-Bilder dunkel, weshalb SPIOs auch als "negatives" Kontrastmittel klassifiziert werden.^[103] SPIOs haben sich daher als Kontrastmittel etabliert und ermöglichen eine frühe und genaue Erkennung verschiedener Erkrankungen wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Multiple Sklerose und sogar neurodegenerative Hirnerkrankungen im Rahmen eines Routine-Screenings.^[43,104,105] Sie sind insbesondere für die Untersuchung von Hirnerkrankungen von Interesse, da sie die Blut-Hirn-Schranke passieren können (**Abbildung 2.6b**).^[104]

Ein weiterer wichtiger Aspekt, der für die Fokussierung auf Fe_3O_4 -Nanopartikel spricht, ist die Tatsache, dass diese außerdem die Behandlung von Tumoren durch die sogenannte magnetische Hyperthermie ermöglichen. Hierbei können Tumorentitäten durch die lokale Überhitzung des Gewebes zerstört werden, indem Fe_3O_4 -Nanopartikel gezielt in das

Tumorgewebe injiziert werden und anschließend ein oszillierendes Magnetfeld angelegt wird.^[43,106] Werden das Magnetfeld H und die Frequenz f so gewählt, dass deren Produkt $H \cdot f \leq 5 \cdot 10^8 \text{ A m}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ist, dann kann die Behandlung eine lokale Zerstörung des Tumorgewebes bewirken, während sie für den restlichen Körper nicht schädigend ist.^[106,107]

Desweiteren ist das sogenannte magnetische Drug Targeting mit SPIOs möglich, bei dem die Fe_3O_4 -Nanopartikel als Wirkstoff-Trägermaterial fungieren und einen gezielten Wirkstoff-Transport gewähren.^[96] Folglich ermöglichen SPIOs, die mit Wirkstoffen kombiniert sind, gleichzeitig diagnostische und therapeutische Anwendungen und werden daher auch als vielversprechende Theragnostika angesehen.^[92,108]

Allerdings ist hierbei zu erwähnen, dass SPIOs sich zwar hervorragend als MRT-Kontrastmittel oder für die magnetische Hyperthermie eignen, ihre Beladungskapazität mit Wirkstoffen jedoch ziemlich limitiert ist, da sich die Wirkstoffe nur auf der Oberfläche der Fe_3O_4 -Nanopartikel anlagern können. Um deren Beladungskapazität weiter zu verbessern, wurden bereits verschiedene Beschichtungen untersucht: Polymer-,^[109] Siliciumdioxid- und mesoporöse Siliciumdioxid-,^[110] Graphenoxid-,^[111] Metalloxid-,^[112,113] Kohlenstoff-,^[114] und neuerdings auch MOF-Beschichtungen.^[115–117]

Aufgrund ihrer porösen Struktur und ihrer in der Regel sehr guten biologischen Abbaubarkeit scheinen sich MOF-Beschichtungen ideal für die Erhöhung der Wirkstoff-Beladungskapazität von SPIOs zu eignen. Daher werden nun Fe_3O_4 -MOF Kompositmaterialien in **Kapitel 2.5** näher beschrieben.

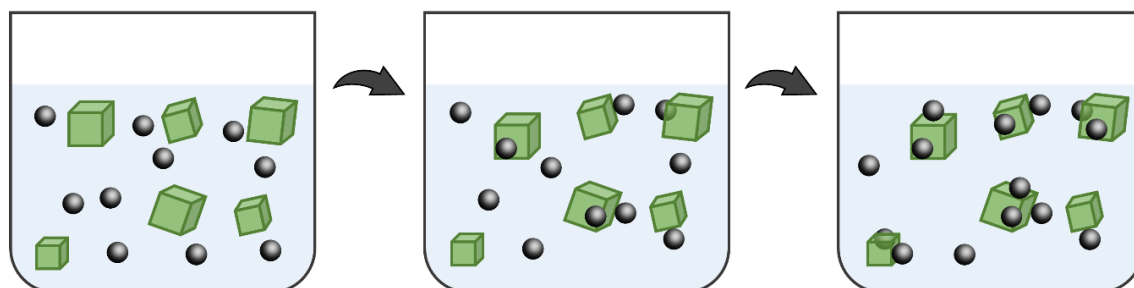
2.5. Metall-organische Gerüstverbindungen mit superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln als Kern

Die Herstellung von Kompositmaterialien stellt eine optimale Möglichkeit dar, die individuellen Stärken zweier Komponenten miteinander zu kombinieren und somit deren Anwendungsfeld weiter zu verbreitern. Im Falle von Fe_3O_4 -MOF Kompositen eignen sich die superparamagnetischen Fe_3O_4 -Nanopartikel (oder Fe_3O_4 -Nanocluster) hervorragend als MRT-Kontrastmittel, während sich MOFs durch eine enorme Wirkstoff-Beladungskapazität in den Poren oder durch eine definierte Bindung zum Wirkstoff ideal als DDS eignen. Damit weisen Fe_3O_4 -MOF Komposite sowohl diagnostische als auch therapeutische Eigenschaften auf und wären somit ein äußerst vielversprechendes Theragnostikum.

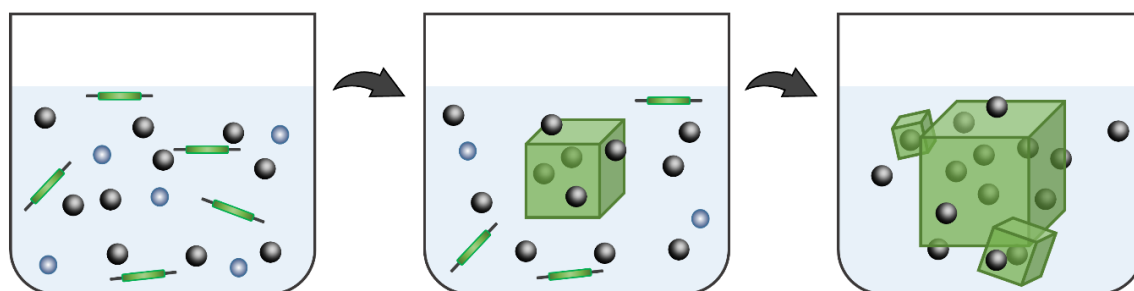
Bisher finden sich in der Literatur vier verschiedene Synthesestrategien für Fe_3O_4 -MOF Kompositmaterialien: Mischen (zu engl.: mixing), Einbetten (zu engl.: embedding), Schicht-für-Schicht (zu engl.: layer-by-layer) und Verkapselung (zu engl.: encapsulation).^[97] Dabei wurden einzelne Fe_3O_4 -Nanopartikel im Allgemeinen für relativ einfache Strategien wie das

Mischen – d.h. Fe_3O_4 -Nanopartikel werden einfach mit den MOF-Nanopartikeln vermischt (**Abbildung 2.7a**)^[118] – und Einbetten – d. h. Integration der Fe_3O_4 -Nanopartikel in das MOF durch eine *in situ*-Synthese in Gegenwart von dispergierten Nanopartikeln im Reaktionsgemisch (**Abbildung 2.7b**) – eingesetzt.^[119]

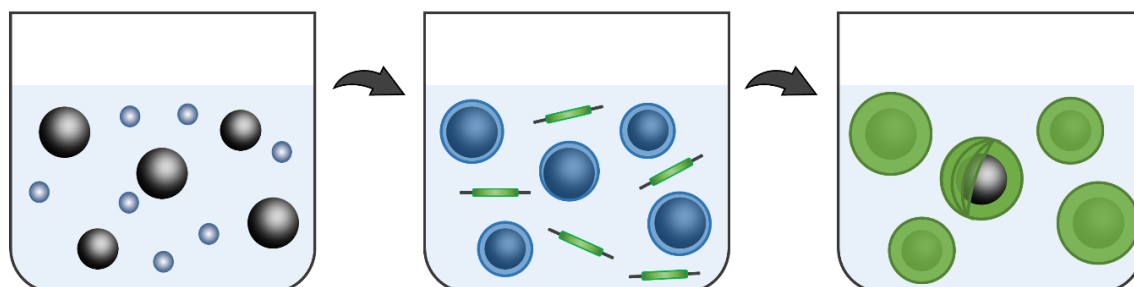
a) Mischen



b) Einbetten



c) Schicht-für-Schicht



d) Verkapselung

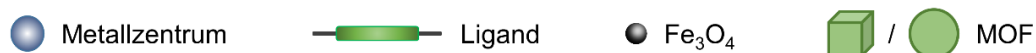
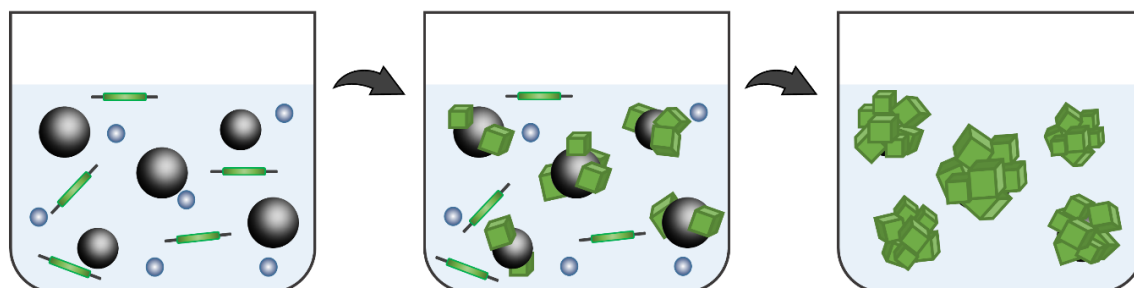


Abbildung 2.7: Synthesestrategien für Fe_3O_4 -MOF Kompositmaterialien: (a) Mischen, (b) Einbetten, (c) Schicht-für-Schicht und (d) Verkapselung.

Im Gegensatz dazu wurden Fe_3O_4 -Nanocluster hauptsächlich für die anspruchsvolleren Schicht-für-Schicht- und Verkapselungs-Synthesestrategien verwendet. Die dabei entstehenden Nanopartikel bestehen aus einem Fe_3O_4 -Kern und einer MOF-Schale und werden daher als Kern-Schale-Nanopartikel (zu engl.: core-shell nanoparticle) bezeichnet. Bei den schichtweisen Ansätzen wird das MOF nach und nach auf die Oberfläche des Fe_3O_4 -Nanoclusters aufgewachsen, indem der Fe_3O_4 -Kern den jeweiligen, gelösten MOF-Komponenten abwechselnd und in mehreren Zyklen ausgesetzt wird (**Abbildung 2.7c**).^[116,120] Diese schichtweisen Ansätze ergeben zwar homogene MOF-Schalen mit einer sehr guten Kontrolle über die Schalenstärke, sind aber im Allgemeinen äußerst zeitaufwändig und mühsam. Diese Probleme können durch Verkapselungsansätze überwunden werden, bei denen die MOF-Schale mit einer moderaten Wachstumsgeschwindigkeit *in situ* um die Fe_3O_4 -Nanocluster herumwächst (**Abbildung 2.7d**). Dafür müssen allerdings zuvor optimierte Reaktionsbedingungen ermittelt werden. Sobald die optimalen MOF-Synthesebedingungen jedoch einmal gefunden sind, ist die Fe_3O_4 -MOF Synthese vergleichsweise schnell und einfach.^[117]

Bisher konzentrierte sich die Mehrzahl der Berichte über Fe_3O_4 -MOF Kompositmaterialien auf fortgeschrittene Anwendungen im Bereich der Katalyse,^[121,122] Trennung^[123,124] oder Wasserreinigung,^[125,126] während nur sehr wenige Beispiele im Hinblick auf mögliche medizinische Anwendungen untersucht wurden.^[115–117,127]

In der Tat ist dabei zu sagen, dass die bisher hergestellten Fe_3O_4 -MOF Kompositmaterialien für medizinische Anwendungen einen deutlichen Optimierungsbedarf aufweisen. Zunächst ist deren Gesamtgröße als Problem zu nennen. Diese unterschreitet 180 nm bisher nicht, was im Hinblick auf eine intravenöse Verabreichung des Wirkstoffträgermaterials jedoch essenziell ist.^[30] Desweiteren ist die Zusammensetzung der Nanokomposite nicht optimal, da bisher der Fe_3O_4 -Kern mit Größen von mehr als 120 nm den größten Anteil in der Struktur des Kern-Schale-Nanopartikels ausmacht und dieser nur von einer dünnen MOF-Schale umgeben wird. Somit ist deren Wirkstoff-Beladungskapazität stark eingeschränkt. Für die Entwicklung effektiver Theragnostika auf Basis von SPIOs wäre es folglich sinnvoll, Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel mit einer Gesamtgröße von weniger als 100 nm herzustellen, die einen kleineren Fe_3O_4 -Kern und dafür eine größere MOF-Schale aufweisen.

Somit wäre es ein wichtiger Fortschritt in der Forschung mit Fe_3O_4 -MOF Nanopartikeln die Größe des Fe_3O_4 -Kerns deutlich zu verkleinern (siehe **Kapitel 5.5**) und einen Verkapselungsansatz zu entwickeln, der Fe_3O_4 -MOF Nanopartikel mit einer Gesamtgröße um 100 nm ergibt (siehe **Kapitel 5.6** und **5.7**).

3. Zielsetzung

Das Forschungsziel dieser Dissertation beruht darauf, multifunktionale Kern-Schale-Nanopartikel zu synthetisieren und diese für gezielte Pharmakotherapien mit Arsentrioxid zu präparieren. Das Hauptaugenmerk war es dabei, das vorhandene Wissen zur Behandlung von hoch aggressiven, soliden Hirntumor-Entitäten mit Arsentrioxid voranzubringen und bestehende Problematiken mit Hilfe eines neuartigen Ansatzes zu lösen: Durch die Nutzung von Metall-organischen Gerüstverbindungen als ATO-Wirkstoff-Trägermaterial. Die folgenden Fragestellungen sollten durch diese Arbeit aufgeklärt werden:

1. Ist es möglich MOF-Strukturen durch postsynthetische Beladungsstrategien mit arsenhaltigen Wirkstoffen zu modifizieren und sind diese als Trägermaterial geeignet?
2. Können zusätzliche Polymer-Beschichtungen die Biokompatibilität und Stabilität dieser Trägermaterialien tatsächlich verbessern?
3. Ist die Synthese von nanoskaligen, superparamagnetischen Fe_3O_4 -Nanoclustern und deren Verkapselung mit MOFs realisierbar?
4. Können auch Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel mit arsenhaltigen Wirkstoffen beladen werden und wären diese als multifunktionales Theragnostikum geeignet?

Daher werden in **Kapitel 5.1-5.3** zunächst verschiedene, bereits existierende MOF-Strukturen als Modellbeispiele untersucht. Anhand ihrer jeweiligen strukturellen Besonderheiten werden dann postsynthetische ATO-Beladungsstrategien entwickelt. Dabei wird deren Synthese, Stabilität in verschiedenen Mikroumgebungen und deren kontrollierte ATO-Beladung sowie – Freisetzung detailliert charakterisiert. Ziel ist es dabei, erste, wichtige Erkenntnisse für die essenziellen Eigenschaften eines MOF-basierten ATO-Wirkstoff-Trägermaterials zu gewinnen. Um einen Einblick in deren therapeutische Wirksamkeit zu erhalten, werden in Kollaboration mit dem Universitätsklinikum in Münster erste *in vitro* Toxizitätsstudien mit arsenhaltigen MOFs durchgeführt.

Um diagnostische Eigenschaften in das Wirkstoff-Trägermaterial integrieren zu können, wird in **Kapitel 5.5** die Synthese von superparamagnetischen Eisenoxid-Nanopartikeln mit einer Gesamtgröße von weniger als 50 nm und einer Oberflächenmodifikation genau erforscht. Anschließend werden in **Kapitel 5.6** verschiedene umweltfreundliche Verkapselungsansätze mit diesen Eisenoxid-Kernen und unterschiedlichen MOFs als poröse, umgebende Schale bei Raumtemperatur entwickelt. Dabei sollen die magnetischen Fe_3O_4 -Kerne zur Rückverfolgung durch das MRT fungieren, während die MOF-Schale zum sicheren und kontrollierten ATO-Transport genutzt werden soll. Durch eine gezielte Minimierung der Partikelgrößen (< 100 nm) soll hierbei sichergestellt werden, dass deren Anreicherung in betroffenem Tumorgewebe über den EPR-Effekt ermöglicht wird.

Abschließend sollen in **Kapitel 5.7** alle neuen Entdeckungen und das erlangte Wissen gezielt kombiniert werden. Daher wird die ATO-Beladung der vielversprechendsten Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel überprüft. Zudem wird deren Stabilität und kontrollierte ATO-Freisetzung ermittelt. Um in einem letzten Schritt deren Eignung als Theragnostikum zu beurteilen, soll zum einen deren therapeutische Wirksamkeit durch *in vitro* Toxizitätsstudien durch Kollaborationspartner am Universitätsklinikum in Münster ermittelt werden und zum anderen sollen essenzielle *in vitro* MRT-Studien für die Evaluation ihrer diagnostischen Eigenschaften ihrer durch Kollaborationspartner am Institut für Klinische und Experimentelle Medizin in Prag durchgeführt werden.

Inhaltlich können die Ziele dieser Dissertation somit wie folgt zusammengefasst werden:

1. Entwicklung postsynthetischer ATO-Beladungsstrategien für existierende MOFs.
2. Synthese nanoskaliger MOFs und Untersuchung der tatsächlichen ATO-Beladung.
3. Untersuchung der Stabilität und ATO-Freisetzung der arsenhaltigen MOFs.
4. Synthese geeigneter, superparamagnetischer Fe_3O_4 -Nanopartikel.
5. Entwicklung von Verkapselungsansätzen mit superparamagnetischen Fe_3O_4 -Kernen und Metall-organischen Gerüstverbindungen als Schale (Fe_3O_4 -MOF).
6. Untersuchung der ATO-Beladung der Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel.
7. Untersuchung der Stabilität und ATO-Freisetzung der arsenhaltigen Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel.

4. Analytische Methoden

Verschiedene analytische Methoden werden benötigt, um unterschiedlichste Aspekte der Struktur, der Stabilität sowie der Eigenschaften von neuartigen oder modifizierten MOF-basierten Materialien genau aufzuklären. **Tabelle 4.1** stellt eine schematische Übersicht der am häufigsten verwendeten analytischen Methoden sowie deren Relevanz für die Charakterisierung von MOF-basierten Materialien dar. Hierbei wurde für die verschiedenen Methoden immer dann ein Häkchen gesetzt, wenn diese im Hinblick auf die Intaktheit des MOF-Netzwerkes, den Nachweis von Verunreinigungen im MOF, den Nachweis der elementaren Zusammensetzung, den qualitativen und quantitativen Nachweis der ATO-Beladung oder die Probendarstellung generell zu Rate gezogen werden können.

Tabelle 4.1: Schematische Übersicht der analytischen Methoden und deren Relevanz für die Charakterisierung von MOF-basierten Materialien im Hinblick auf die Intaktheit des MOF-Netzwerkes, den Nachweis von Verunreinigungen im MOF, den Nachweis der elementaren Zusammensetzung, den qualitativen und quantitativen Nachweis der ATO-Beladung sowie die Probendarstellung.

Methode	Intakt- heit der MOF Struktur	Nachweis von Verun- reinigungen im MOF	Nachweis der elem. Zusammen- setzung	Qual. Nachweis der ATO- Beladung	Quant. Nachweis der ATO- Beladung	Ab- bild- ung
XRPD	✓	✓		✓		
FT-IR- Spektroskopie	✓	✓		✓		
Raman Spektroskopie	✓	✓		✓		
TGA	✓	✓				
Sorptions- analyse	✓			✓		
TEM						✓
STEM						✓
EDX Spektroskopie		✓	✓		✓	
ICP-OES			✓		✓	
CHNS Analyse	✓		✓		✓	

Allerdings soll an dieser Stelle betont werden, dass **Tabelle 4.1** stark vereinfacht ist und die verschiedenen Methoden jeweils nur einen kleinen Einblick auf bestimmte Eigenschaften des Materials gewähren können. So wurde zum Beispiel sowohl für XRPD als auch FT-IR-Spektroskopie ein Häkchen bei „Intaktheit des MOF-Netzwerkes“ gesetzt, da prinzipiell beide Methoden eine Aussage darüber ermöglichen – im Falle des XRPD wird dabei jedoch die Fernordnung charakterisiert, während mittels FT-IR-Spektroskopie nur die Nahordnung analysiert werden kann. Um also einen möglichst umfassenden Einblick in beispielsweise den Abbau des MOF-basierten Drug Delivery Systems während der Wirkstoff-Freisetzung zu erhalten, sollten folglich stets mehrere Methoden komplementär eingesetzt werden.

Im Folgenden werden alle genannten Methoden im Hinblick auf deren Nutzung im Rahmen dieser Dissertation kurz erläutert.

4.1. Röntgendiffraktion

Die Röntgendiffraktion ist eine sehr gute Methode für die strukturelle Aufklärung von kristallinen Festkörperproben. Mit Hilfe der Einkristalldiffraktion kann dabei die Struktur von neuartigen Verbindungen aufgeklärt werden, während die Pulverdiffraktion an mikrokristallinen Proben vor allem der Analyse von einzelnen Phasen und der Bestimmung der Probenreinheit dient. Nachdem in dieser Arbeit ausschließlich mit Nanopartikeln gearbeitet wurde, wurden lediglich Pulverdiffraktionen durchgeführt, wobei für temperaturabhängige Messungen teilweise ein Ofenaufsatz verwendet wurde.

Um Röntgendiffraktionen durchzuführen, müssen zunächst Röntgenstrahlen erzeugt werden. Dies geschieht durch den Beschuss einer Anode mit Elektronen.^[128]

Alle Pulverdiffraktometer, die für diese Arbeit verwendet wurden (**Abbildung 4.1a-c**), besitzen Kupfer als Anodenmaterial und generieren daher eine charakteristische Wellenlänge $\lambda(\text{Cu}_{K\alpha}) = 1.54178 \text{ \AA}$.^[129] Die Bragg-Gleichung beschreibt dabei die konstruktive Interferenz von gestreuten Wellen an einem Kristallgitter und verdeutlicht den Zusammenhang der Wellenlänge λ , des Netzebenenabstandes d und des Diffraktionswinkels θ .^[129]

$$n \cdot \lambda = 2 \cdot d \cdot \sin \theta$$

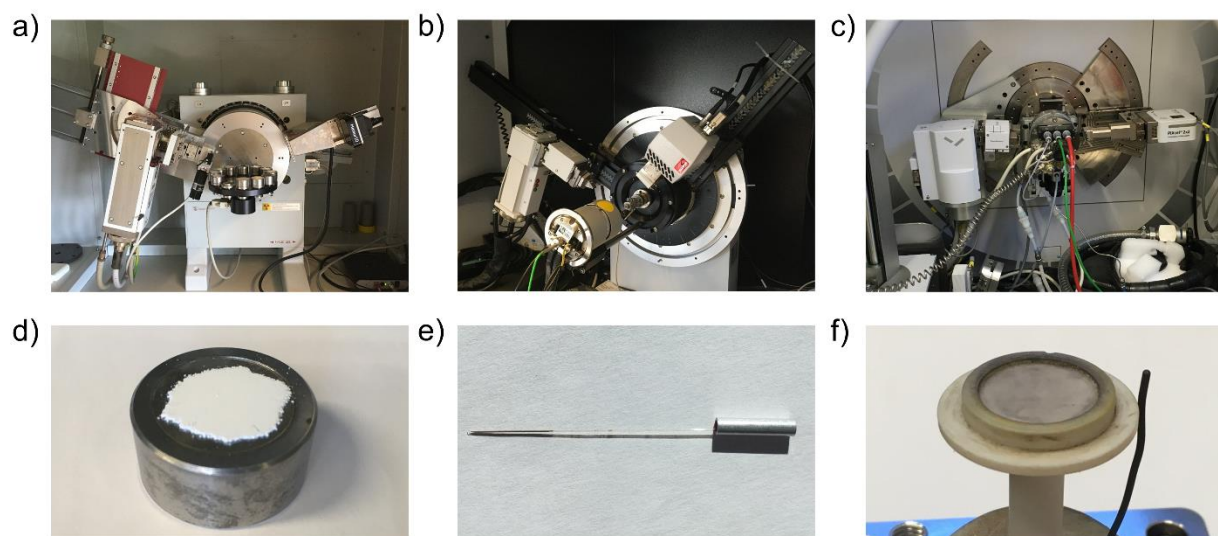


Abbildung 4.1: Verwendete Pulverdiffraktometer mit Cu-K α Strahlung: (a) Seifert XRD 3003 TT Diffraktometer ausgestattet mit einem Meteor 1D Detektor mit (d) dem dazugehörigen Probenträger, (b) Bruker D8 Advance Diffraktometer ausgestattet mit einem 1D LynxEye Detektor mit (e) einer gefüllten Glaskapillare, und (c) Empyrean (PANalytical) Diffraktometer ausgestattet mit einem Bragg–BrentanoHD mirror mit (f) dem dazugehörigen Probenträger.

Vor der Messung mit einem dieser Geräte wurden die Proben in einem Achatmörser verrieben, um die statistische Orientierung einzelner Kristallite zu verbessern, und dann entweder flach auf einem Probenträger aufgetragen (**Abbildung 4.1d** und **Abbildung 4.1f**) oder in eine Hilgenberg Glaskapillare (Außendurchmesser 0,3 mm; Wandstärke 0,01 mm) gefüllt (**Abbildung 4.1e**). Während der Messung wurden die Probenträger stets rotiert, sodass die statistische Orientierung der Kristallite zusätzlich optimiert wurde, und dann wurde die Intensität in Abhängigkeit des Diffraktionswinkels im Bereich $2\theta = 4-70^\circ$ gemessen. Abschließend wurden die erhaltenen Pulverdiffraktogramme mit Daten aus der Literatur, aus der Cambridge Structural Database (CSD), der Inorganic Crystal Structure Database (ICSD) oder mit simulierten Diffraktogrammen, die auf modellierten Kristallstrukturen basierten, verglichen.

Aufgrund des geringen Vorbereitungsaufwands und der kurzen Messzeit wurden alle Standardmessungen mit dem Seifert XRD 3003 TT Diffraktometer durchgeführt. Wenn allerdings qualitativ hochwertigere Messungen benötigt wurden, dann wurde das Bruker D8 Advance Diffraktometer mit einer Transmissionsgeometrie verwendet. Dies gilt insbesondere für die Analyse von sehr kleinen Nanopartikeln, bei denen die geringe Partikelgröße zu einer Reflexverbreiterung führt, oder im Falle von Kern-Schale-Nanopartikeln, die nur einen kleinen Anteil an MOF-Nanopartikeln aufweisen.

Der Zusammenhang der Kristallitgröße ε und der soeben erwähnten Zunahme der Halbwertsbreiten aller Beugungsreflexe b bei polykristallinen Pulverproben in Nanoskala ($< 100-200$ nm) wird durch die Scherrer-Gleichung beschrieben:^[130,131]

$$\varepsilon = \frac{K \cdot \lambda}{b \cdot \cos\theta}$$

Dabei steht λ für die verwendete Wellenlänge, θ für den Bragg-Winkel und K für die sogenannte Scherrer-Konstante. Theoretisch kann mit Hilfe der Scherrer-Gleichung also die Kristallitgröße ε eines Materials berechnet werden. Allerdings sollte hierbei erwähnt werden, dass diese Bestimmung mit Cu-K α Strahlung insbesondere bei eisenhaltigen Proben in der Regel recht ungenau ist, da aufgrund von Fluoreszenzstrahlung meist ein hohes Hintergrundrauschen verursacht wird.^[132] Infolgedessen wurden Partikelgrößen im Rahmen dieser Arbeit stets mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) ermittelt.

Zusätzlich wurden das Bruker D8 Advance Diffraktometer und das Empyrean (PANalytical) Diffraktometer mit einem Ofenaufsatz verwendet, sodass temperaturabhängige Pulverdiffraktogramme im Bereich von 25-800 °C aufgenommen werden konnten. Dadurch war es möglich die zunehmende Zersetzung der hergestellten Proben sowie die sukzessive Entstehung von deren Zersetzungsprodukten in Abhängigkeit der Temperatur zu untersuchen.

Im Folgenden wird die Relevanz der Röntgenpulverdiffraktion bezüglich der Charakterisierung der Beladung, der Beschichtung oder des Abbaus von MOF-basierten Nanopartikeln beurteilt. Hierbei ist zu sagen, dass mittels XRPD lediglich die Fernordnung der Proben charakterisiert wird und, dass amorphe Anteile der Proben nicht identifiziert werden können.

Im Falle einer erfolgreichen Beladung eines MOF-Netzwerkes mit arsenhaltigen Wirkstoffen treten in der Regel wenige, zusätzliche Beugungsreflexe im Röntgenpulverdiffraktogramm auf. Wenn diese nicht durch Arsen-Salze oder in den Poren eingelagertes, dehydriertes As_4O_6 erklärbar sind, sollten diese ersten positiven Hinweise auf eine erfolgreiche ATO-Beladung mit Hilfe einer komplementären analytischen Methode wie der FT-IR-Spektroskopie verifiziert werden.

Um die Beschichtung von MOF-basierten Nanopartikeln beurteilen zu können, stellt die Röntgenpulverdiffraktion allerdings keine geeignete Methode dar. Da die verschiedenen Polymere lediglich amorph und nur zu einem sehr geringen Anteil vorliegen, ist es nicht möglich diese mittels XRPD nachzuweisen. Hierbei sind hauptsächlich analytische Methoden wie die FT-IR-Spektroskopie oder die TG-Analyse relevant.

Bei der Untersuchung der Stabilität eines MOF-basierten Nanopartikels nach Stabilitätsstudien in unterschiedlichen Mikroumgebungen kann die Röntgenpulverdiffraktion eingesetzt werden. Findet ein Abbau des MOF-Netzwerkes statt, so ist diese Zersetzung in der Regel anfangs nur partiell und nimmt dann sukzessiv zu. Folglich hat diese zunächst nur eine relativ geringe Auswirkung auf das resultierende Röntgenpulverdiffraktogramm. Allerdings sind hierbei meist kontinuierlich abnehmende Reflexintensitäten sowie eine Zunahme der Halbwertsbreiten aller Beugungsreflexe zu beobachten. Demnach kann die Abnahme der Probenkristallinität sowie die Verringerung der einzelnen Nanopartikel mittels XRPD charakterisiert werden. An dieser Stelle ist jedoch es äußerst wichtig zu betonen, dass der zunehmende amorphe Anteil der Proben mittels XRPD nicht analysiert werden kann und für eine umfassende Charakterisierung des Abbaus eines DDS daher zusätzliche spektroskopische Methoden wie die FT-IR-Spektroskopie hinzugezogen werden sollten.

4.2. Schwingungsspektroskopie

Spektroskopische Methoden basieren auf der Wechselwirkung zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie und sind äußerst hilfreich, um chemische Substanzen sowie deren Verunreinigungen genau zu identifizieren. Dies resultiert daraus, dass jeder molekularen Substruktur typische strukturelle Schwingungen zueigen sind und diese dadurch einen charakteristischen sogenannten „Fingerprint“-Bereich aufweisen.^[133]

In dieser Arbeit wurden zwei komplementäre spektroskopische Methoden verwendet: Die Fourier-Transformations-Infrarot Spektroskopie (FT-IR) und die Raman Spektroskopie.

Die **FT-IR-Spektroskopie** basiert auf der Absorption von Infrarotstrahlung durch Moleküle und der anschließenden Entstehung von elektrischen Dipolmomenten innerhalb dieser Moleküle.^[134] Im elektromagnetischen Spektrum deckt die Infrarotstrahlung den Wellenlängen- bzw. Wellenzahl-Bereich von 0,8 bis 1000 μm bzw. von 12500 bis 10 cm^{-1} ab.^[134] Nachdem die Infrarotstrahlung energetisch betrachtet dem Bereich der Rotationsniveaus von kleinen Molekülen und der Schwingungsniveaus von Molekülbindungen entspricht, absorbieren Moleküle, die Infrarotstrahlung ausgesetzt sind, nur diejenigen Resonanzfrequenzen, die mit ihren eigenen Schwingungsfrequenzen übereinstimmen. Durch die Auftragung der gemessenen Absorption bzw. Transmission gegen die Wellenzahl ist es demnach eindeutig möglich, charakteristische Substrukturen einer Verbindung zu identifizieren. Dabei ist jedoch zu beachten, dass nur diejenigen Schwingungsmoden als IR-aktiv bezeichnet werden, bei denen sich das elektrische Dipolmoment des Moleküls oder der Bindung ändert.^[134]

In dieser Arbeit wurden die IR-Spektren mit einem Bruker Equinox 55 FT-IR-Spektrometer mit einer Bruker Platinum Attenuated Total Reflexion (ATR) Einheit im mittleren and fernen Infrarotbereich von 4000 bis 400 cm^{-1} bzw. von 400 bis 100 cm^{-1} aufgenommen (**Abbildung 4.2**). Alle FT-IR-Spektren wurden mit Daten aus der Literatur oder mit berechneten IR-Spektren verglichen. Dazu wurde die SpecDis Software Version 1.71 verwendet.^[135]

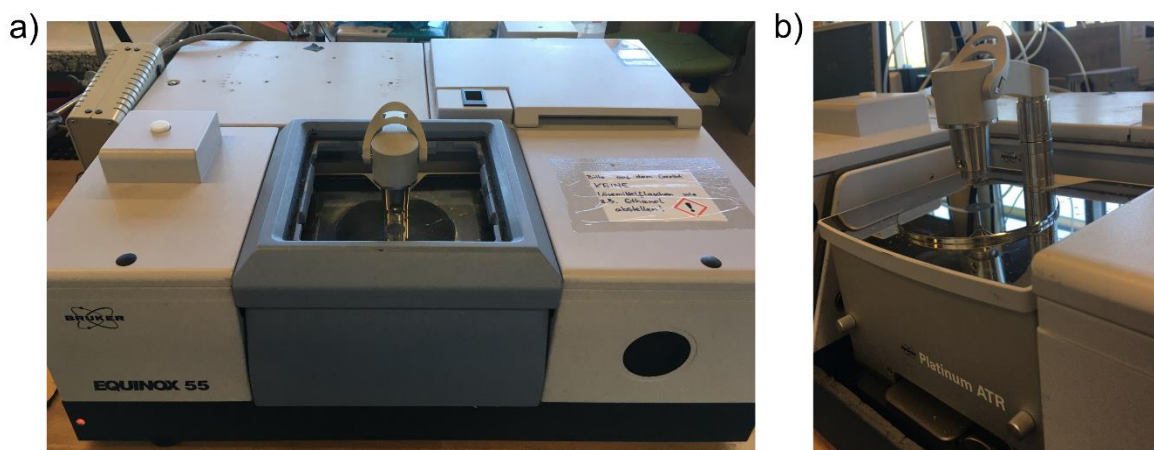


Abbildung 4.2: Messgerät für Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie (FT-IR): (a) Bruker Equinox 55 FT-IR-Spektrometer mit (b) einer Bruker Platinum Attenuated Total Reflexion (ATR) Einheit.

Die FT-IR-Spektroskopie hat sich als eine hervorragende Methode für die Charakterisierung der Beladung eines MOF-basierten Nanopartikels mit arsenhaltigen Wirkstoffen, dessen Beschichtung mit einem Polymer oder auch der Untersuchung der Stabilität des DDS in

verschiedenen Mikroumgebungen erwiesen. Im Gegensatz zur Röntgenpulverdiffraktion können hierbei auch amorphe Anteile analysiert werden, da die Nahordnung der Proben für die jeweiligen Schwingungen maßgeblich relevant ist.

Jedes MOF-Netzwerk weist einen charakteristischen „Fingerprint“-Bereich auf und somit ist es bei der Analyse eines isolierten Feststoffes direkt möglich zusätzliche Banden in den FT-IR-Spektren zu ermitteln. Da auch arsenhaltige Wirkstoffe oder Polymere aufgrund verschiedener funktioneller Gruppen eindeutige Schwingungen im „Fingerprint“-Bereich verursachen, kann stets eindeutig identifiziert werden, ob es gelungen ist ATO-Verbindungen in ein MOF-Netzwerk zu integrieren oder ob eine Beschichtung mit einem Polymer erfolgreich war.

Desweiteren kann auch der partielle Abbau eines MOF-Netzwerkes mittels FT-IR-Spektroskopie untersucht werden. Zum einen weist die kontinuierliche Verringerung der Bandenintensität auf einen zunehmenden Zerfall des MOF-Netzwerkes hin und zum anderen treten häufig zusätzliche Banden auf, die durch den freigesetzten organischen Liganden des jeweiligen MOFs verursacht werden.

Die **Raman Spektroskopie** wurde als komplementäre Methode zur FT-IR-Spektroskopie verwendet. Im Gegensatz zur FT-IR-Spektroskopie basiert die Raman Spektroskopie nicht auf Absorptionprozessen, sondern auf inelastischer Streuung von Photonen. Somit ist sie nicht von Veränderungen des elektrischen Dipolmoments abhängig, sondern von Veränderungen der elektrischen Dipolpolarisierbarkeit. Bei der Messung werden die Proben mit einem Laser im sichtbaren Bereich bestrahlt. Dabei induziert die Wechselwirkung des Laserstrahls mit der Elektronenwolke der Probe ein Dipolmoment, das von der Polarisierbarkeit des jeweiligen Moleküls abhängt. Bei dieser Form der inelastischen Lichtstreuung regt ein Photon die Probe an und wird kurz darauf aufgrund seiner Wechselwirkung mit dieser mit einer höheren oder niedrigeren Energie emittiert. Die resultierenden Frequenzverschiebungen der Rotations- oder Schwingungszustände der Probe werden als Stokes-Verschiebung (zu engl.: downshift) oder Anti-Stokes-Verschiebung (zu engl.: upshift) bezeichnet.^[133] Da diese Frequenzverschiebungen mit den charakteristischen Schwingungsfrequenzen molekularer Substrukturen korrelieren, ist es möglich, die strukturellen „Fingerprints“ eines Moleküls genau zu identifizieren, wenn die gemessene Transmission als Funktion der Frequenz oder der Wellenzahl aufgetragen wird.^[133]

In dieser Arbeit wurden die Raman Spektren mit einem Thermo Scientific DXR Raman-Mikroskop aufgenommen, das mit einem 532 nm Laser bei 10 mW Leistung betrieben wurde. Die Spektren wurden im Bereich von 1800 bis 50 cm^{-1} gemessen und mit Literaturdaten verglichen. Generell kann im Vergleich zur komplementären FT-IR-

Spektroskopie somit also ein deutlich niedrigerer Wellenzahlen-bereich erreicht werden, in dem auch Gitterschwingungen eines Festkörpers detektiert werden können. Ein weiterer genereller Vorteil gegenüber der FT-IR-Spektroskopie ist die Tatsache, dass die Raman Spektroskopie nur intensitäts-schwache Wasser-Banden zeigt, sodass auch wässrige Systeme analysiert werden können.^[136]

Insbesondere beim Nachweis einer erfolgreichen ATO-Beladung im Falle des nicht funktionalisierten ZIF-8-Netzwerkes hat sich die Raman Spektroskopie sich als äußerst nützlich erwiesen, um die Ergebnisse der FT-IR-Spektroskopie zu untermauern.

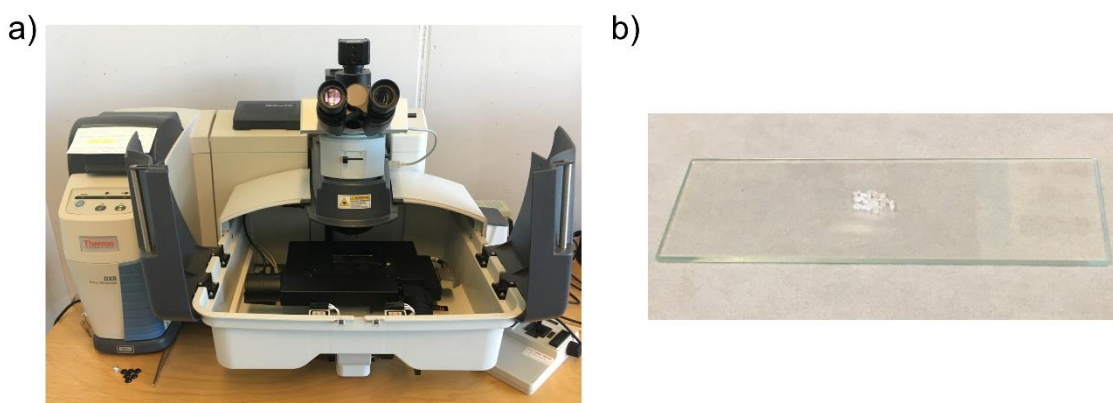


Abbildung 4.3: Messgerät für Raman Spektren: Thermo Scientific DXR Raman-Mikroskop mit einem 532 nm Laser bei einer Leistung von 10 mW.

4.3. Thermogravimetrische Analyse

Um die thermische Stabilität eines MOFs oder die Menge bzw. die Beschaffenheit von in Poren eingeschlossenen Lösungsmittelmolekülen oder Polymeren zu bestimmen, wurden thermogravimetrische Analysen (TGA) durchgeführt. Dabei wurde die Probenmasse in Abhängigkeit von der Temperatur und/oder der Zeit erfasst.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden alle Proben mit dem TA Instruments Q500 mit einem hängenden Platin-Probenhalter und unter Stickstoffatmosphäre untersucht (**Abbildung 4.4**). Während der Messung wurde die Temperatur mit einer Heizrate von 10 °C / min von 25 °C auf 700 °C erhöht.

Anhand der gemessenen Massenverluste (angegeben in Gew.-%) und der entsprechenden Temperatur konnten die verschiedenen Stufen in jeder gemessenen TGA eindeutig der Menge an Feuchtigkeit auf der Oberfläche sowie der Menge an Lösungsmittel-Molekülen jeglicher Art in den Poren zugeordnet werden. Darüber hinaus konnten Polymerbeschichtungen auf der MOF-Oberfläche nachgewiesen werden, da diese einen zusätzlichen Massenverlust verursachen, der bei der jeweiligen Zersetzungstemperatur des Polymers selbst oder geringfügig darüber auftritt. Darüber hinaus ist die TGA eine

elegante Methode, um die thermische Stabilität eines MOF-Netzwerkes zu ermitteln. In der Regel erfolgt die Zersetzung des MOF-Netzwerkes als letzter und größter Schritt einer TGA. Geringfügige Verschiebungen der charakteristischen Zersetzungstemperatur eines MOF-Netzwerkes hin zu niedrigeren Temperaturen können dabei entweder ein Hinweis auf eine partielle Schädigung des Netzwerkes oder auf sehr kleine MOF-Partikelgrößen sein.

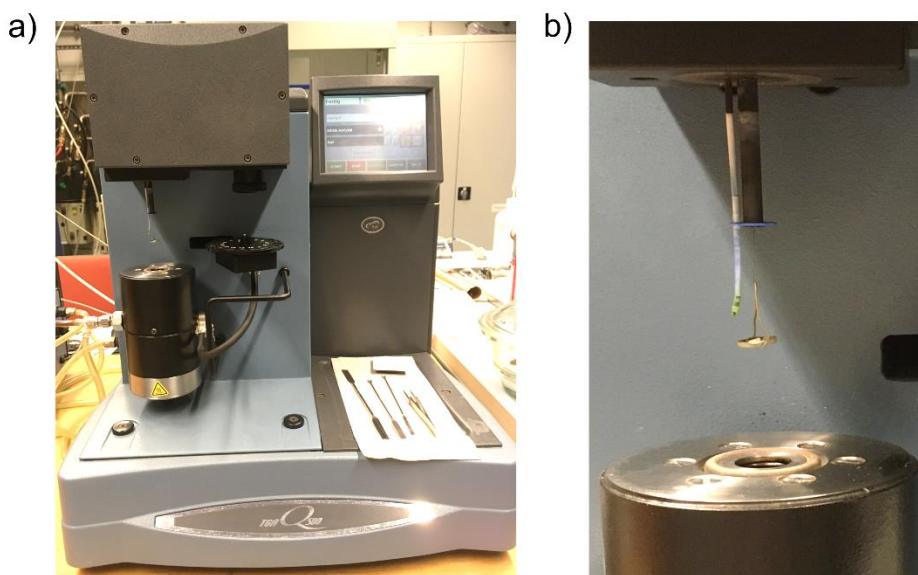


Abbildung 4.4: Gerät für thermogravimetrische Analysen: TA Instruments Q500.

4.4. Physisorptionsanalyse

Im Hinblick auf die allgemeine MOF-Definition, die besagt, dass ein MOF ein Koordinationsnetzwerk mit organischen Liganden ist, das potentielle Hohlräume enthält,^[71] wird die Notwendigkeit einer Charakterisierungsmethode für die Porosität und das Sorptionsverhalten von MOFs sehr deutlich. Insbesondere für die Bestimmung der spezifischen Oberfläche (zu engl.: Specific Surface Area = SSA) und der Porengrößen, die die markantesten und einzigartigsten Merkmale eines jeden MOF-Netzwerkes darstellen, sind Physisorptionsanalysen unerlässlich. Dafür wurden die Proben zunächst in Glasröhrchen gefüllt (**Abbildung 4.5c**). Um in den Poren eingelagerte Lösungsmittelmoleküle zu entfernen, wurde dann vor jeder Messung eine Probenaktivierung durchgeführt. Basierend auf den Ergebnissen der thermogravimetrischen Analyse wurde jede Probe bei ihrer entsprechenden, erhöhten Temperatur und unter Hochvakuum mehrere Stunden lang erhitzt (**Abbildung 4.5a**). Nach dem Entfernen der Lösungsmittelmoleküle in den Poren oder der Feuchtigkeit auf der Oberfläche wurden Argon-Sorptionsisothermen mit dem Quantachrome Autosorb-I bei 77 K aufgenommen (**Abbildung 4.5b**) und mit der entsprechenden Quantachrome-Software ausgewertet.

Dabei erwies sich Argon als das am besten geeignete Gas für alle mikroporösen Materialien, die im Rahmen dieser Arbeit charakterisiert wurden.

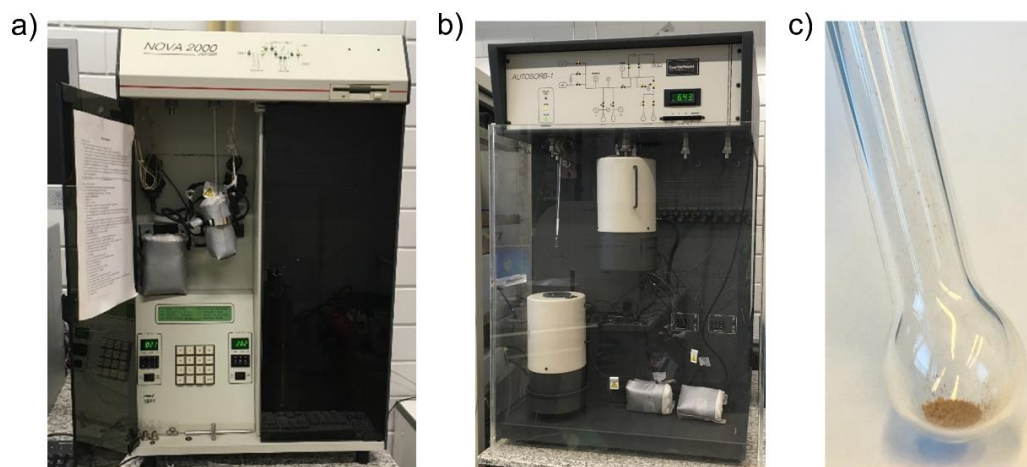


Abbildung 4.5: Messgeräte für Argon-Sorptionsanalysen: (a) Quantachrome NOVA 2000 für die Probenaktivierung und (b) Quantachrome Autosorb-I ASI-CP-8 für die Sorptionsanalysen und (c) eine für die Messung vorbereitete Probe.

Durch die Menge des adsorbierten Argongases, die als Funktion des relativen Drucks aufgetragen wird, ist es möglich, die spezifische Oberfläche, die Porengrößen sowie die Porengrößenverteilung genau zu errechnen. Daher ist der Wert des SSA ein sehr wichtiger und charakteristischer Maßstab für jedes MOF-Netzwerk, da er Rückschlüsse auf die Integrität des MOF-Netzwerkes zulässt. Erhält man geringere Werte als für ein MOF bekannt, so ist dies ein Hinweis darauf, dass das Netzwerk teilweise kollabiert sein könnte. Darüber hinaus lassen sich solche Abweichungen durch den Austausch von Seitenliganden oder die Beladung der Poren eines MOFs mit kleinen Molekülen, wie beispielsweise Arsentrioxid, erklären, denn das spiegelt sich deutlich im Wert der SSA wider. Derartige Hypothesen können validiert werden, indem man die erhaltenen SSA-Werte mit theoretischen SSA-Werten vergleicht, die auf der Basis entsprechend modellierter Kristallstrukturen, z.B. mit Hilfe der Poreblazer-Software, berechnet werden.^[137]

4.5. Elektronenmikroskopie

Üblicherweise werden optische Mikroskope (Auflösung > 200 nm) verwendet, um Bilder von präparierten Materialien aufzunehmen. In dieser Arbeit wurden aber ausschließlich Proben im Nanoskala-Bereich präpariert, sodass für die Visualisierung dieser Nanopartikel Elektronenmikroskope benötigt wurden. Dabei wurden verschiedene Arten von Elektronenmikroskopen verwendet: Rasterelektronenmikroskope (zu engl.: Scanning Electron Microscope = SEM, Auflösung ~ 10 nm), Transmissionselektronenmikroskope (TEM, Auflösung < 1 nm) sowie auch Rastertransmissionselektronenmikroskopie (zu engl.:

Scanning Transmission Electron Microscope = STEM, Auflösung $< 0,1 \text{ nm}$). Die Partikelgröße sowie die gewünschte Auflösung der Partikelmerkmale bestimmen somit, welche dieser Methoden am besten geeignet ist. Da jedoch alle Materialien in dieser Arbeit Partikelgrößen in etwa 100 nm aufwiesen, wurden ausschließlich TEM- und STEM-Bilder aufgenommen.

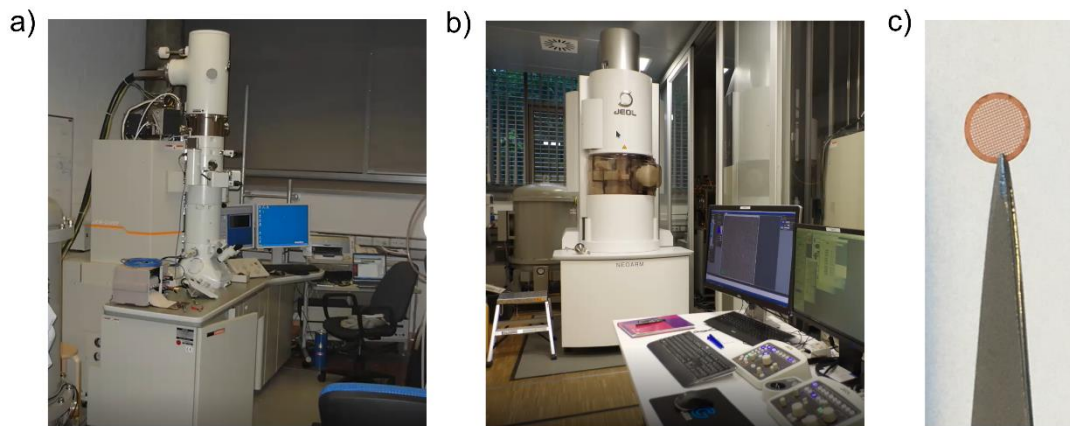


Abbildung 4.6: Verwendete Transmissionselektronenmikroskope: (a) JEOL 2100F mit einer FEG Elektronenquelle und (b) JEM NEOARM (JEOL) mit einer kalten FEG Elektronenquelle und (c) eine präparierte TEM-Probe.

Für die **Transmissionselektronenmikroskopie** (TEM) wurden zwei verschiedene Geräte verwendet, das JEOL 2100F (**Abbildung 4.6a**) und das neuere JEM NEOARM (**Abbildung 4.6b**). Hierbei wird zunächst ein Elektronenstrahl erzeugt, dessen Strahlengang in einem Vakuum verläuft, um die Ablenkung der Elektronen durch Luftmoleküle zu minimieren. Mit Hilfe eines Kondensor-Linsensystems wird dieser anschließend so justiert, dass er idealerweise parallel auf die zu untersuchende Probe trifft. Damit der Elektronenstrahl den Probenkörper durchleuchten kann, sollte dieser folglich möglichst dünn sein ($< 100 \text{ nm}$). Über ein Objektiv- und Projektiv-Linsensystem kann das Abbild der Probe dann korrigiert und vergrößert auf den Detektor projiziert werden, sodass abschließend ein TEM-Bild unterhalb der Probe aufgenommen werden kann.^[138,139] Für die Probenpräparation wurden dabei die kristallinen Proben in Ethanol dispergiert und anschließend wurde ein Tropfen der Dispersion auf einem kohlenstoffbeschichteten Kupfergitter (200 mesh) abgeschieden. Daraufhin wurden die Kupfergitter an Luft getrocknet (**Abbildung 4.6c**). Sobald die Proben in das Gerät eingeschleust wurden und der Elektronenstrahl justiert war, konnten TEM-Aufnahmen gemacht werden, um die durchschnittlichen Partikelgrößen zu bestimmen oder die Kern-Schale-Struktur der Nanopartikel zu verifizieren.

Die **Rastertransmissionselektronenmikroskopie** (STEM) stellt eine Kombination aus SEM- und TEM-Mikroskopie dar und wurde ebenfalls mit zwei Geräten durchgeführt: Mit

dem JEM NEOARM (**Abbildung 4.6b**) und mit dem Crossbeam 550 Gemini II (**Abbildung 4.7b**). Auch im Falle von STEM wird die Probe mit einem Elektronenstrahl durchleuchtet und die Elektronen werden unterhalb der Probe detektiert (wie beim TEM). Anstatt eines parallelen Elektronenstrahls wird allerdings ein sehr fokussierter Strahl verwendet und mit diesem Fokuspunkt wird die Probe abgerastert (wie beim SEM).^[139] Für alle Routineanalysen wurden STEM-Bilder mit dem Crossbeam 550 Gemini II aufgenommen, während hochauflösende STEM-Bilder mit dem JEM NEOARM aufgenommen wurden. Dies hat hauptsächlich zwei Gründe: Erstens bietet der Probenhalter des Crossbeam 550 Gemini II Platz für zwölf Proben, während das JEM NEOARM Mikroskop nur Platz für eine Probe hat. Zweitens kann das Crossbeam 550 Gemini II nur bei 30 kV betrieben werden, während das JEM NEOARM Mikroskop bis zu 200 kV betrieben werden kann, was eine deutlich bessere Auflösung, bis zu atomarer Auflösung, ermöglicht. Darüber hinaus ist das JEM NEOARM Mikroskop mit einem besseren EDX-Detektor ausgestattet, sodass hochauflösende EDS-Element-Mappings aufgenommen werden konnten.

4.6. Energie-disperse Röntgenspektroskopie

Die Energie-disperse Röntgenspektroskopie (zu engl.: *Energie Dispersive X-Ray spectroscopy* = EDX) wurde angewandt, um die elementare Zusammensetzung aller präparierten Proben zu ermitteln. Dabei kamen die beiden SEM-Mikroskope, das Philips XL 30 FEG (**Abbildung 4.7a**) und das Crossbeam 550 Gemini II (**Abbildung 4.7b**), sowie das JEM NEOARM TEM-Mikroskop (**Abbildung 4.6b**) zum Einsatz. Für die Probenvorbereitung für die EDX-Spektroskopie mit einem SEM wurden die kristallinen Proben als dünner Film auf ein Kohlenstoff-Pad aufgetragen. Wenn allerdings einzelne Nanopartikel gewünscht wurden, dann wurden die Proben zunächst in Ethanol dispergiert und dann tropfenweise auf das Kohlenstoff-Pad aufgebracht (**Abbildung 4.7c**).

Wenn der Elektronenstrahl der Elektronenmikroskope mit der Probe, bzw. um genauer zu sein mit der Elektronenhülle der verschiedenen Atome der Probe kollidiert, dann können dadurch Elektronen aus einer innen liegenden Schale entfernt werden. Springen dann energetisch höher liegende Elektronen in eine der inneren Schalen, um die entstandene Lücke wieder aufzufüllen, so emittieren diese charakteristische Linien des Röntgen-emissionsspektrums.^[140] Diese Emissionen werden oberhalb der Probe detektiert. Wenn sie als Funktion ihrer Energie (keV) aufgetragen werden, zeigen sie deutlich das Vorhandensein sowie die relative Menge aller Elemente einer analysierten Probe an. Im Allgemeinen nimmt die Genauigkeit der EDX-Spektroskopie jedoch für Elemente mit niedriger Atomzahl leicht ab, und theoretisch ist die Nachweisgrenze eines Detektors ohne Fenster das Element Bor.^[141]

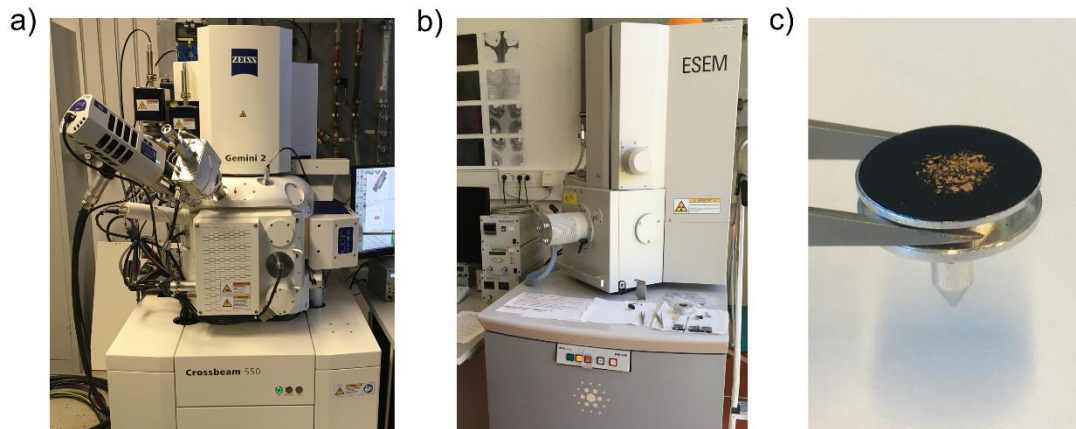


Abbildung 4.7: Verwendete Rasterelektronenmikroskope für EDX: (a) Philips XL 30 FEG; (b) Crossbeam 550 Gemini II (ZEISS) mit einer FEG Elektronenquelle und (c) a präparierte SEM-Probe.

Somit konnten alle Elemente, die im Rahmen dieser Arbeit von Interesse waren, da sie Teil des Fe_3O_4 -Kerns (d.h. Fe und O), des MOFs (d.h. C, N, O, Cl, Zn) oder des arsenhaltigen Wirkstoffes (d.h. As und O) waren, präzise nachgewiesen werden. Obwohl die EDX-Spektroskopie in erster Linie Informationen über die elementare Zusammensetzung in den Oberflächenbereichen einer Probe liefert, war sie im Rahmen dieser Arbeit die Standardmessung für eine erste Abschätzung der Menge der Beladung des arsenhaltigen Wirkstoffes innerhalb des MOF-Netzwerkes, da die Probenvorbereitung einfach und die Messung nicht zeitaufwendig war. Wann immer eine vielversprechende Probe gefunden wurde, wurde die genaue elementare Zusammensetzung des gesamten Partikelmaterials mittels ICP-OES-Spektroskopie bestimmt (siehe **Kapitel 4.7**).

Darüber hinaus waren Element-Mappings mit einer guten räumlichen Auflösung im Falle der Nanopartikel mit einer Kern-Schale-Struktur von großem Interesse. Da das Crossbeam 550 Gemini II Mikroskop nur bei maximal 30 kV und das JEM NEOARM Mikroskop bei bis zu 200 kV betrieben werden kann, ermöglicht das Letztere eine viel bessere räumliche Auflösung. Durch die viel höhere Beschleunigungsspannung U kann hierbei eine signifikant kleinere Wellenlänge λ generiert werden, die wiederum zu einer deutlich niedrigeren Auflösungsgrenze d_{\min} führt:^[139]

$$d_{\min} = 0,6 \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha}$$

$$\lambda = \frac{h}{\sqrt{2m \cdot eU \left(1 + \frac{eU}{2mc^2}\right)}}$$

Dabei ist h das Plancksche Wirkungsquantum, m die Ruhemasse eines Elektrons, e die Elementarladung eines Elektrons, c die Lichtgeschwindigkeit und $n \cdot \sin \alpha$ die numerische Apertur des Mikroskops.

4.7. Induktiv gekoppelte Plasma-optische Emissionsspektroskopie

Zur Bestimmung der exakten Elementzusammensetzung eines gesamten Partikels wurden induktiv gekoppelte Plasma-optische Emissionsspektroskopien (zu engl.: *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* = ICP-OES) mit dem Vista MPX von VARIAN durchgeführt (**Abbildung 4.8**). Das Gerät besteht aus zwei Hauptbestandteilen, nämlich dem induktiv gekoppelten Plasma (zu engl.: *Inductively Coupled Plasma* = ICP) und dem optischen Spektrometer (zu engl.: *Optical Emission Spectrometry* = OES).^[142] Zunächst wird in der induktiv gekoppelten Plasmaeinheit ein Argonplasma erzeugt und dann wird die gelöste Probe durch eine Peristaltikpumpe in den analytischen Zerstäuber geleitet, durch den der Probennebel direkt in die Plasmaflamme eingebracht wird. Durch die Kollision der Probe mit den Elektronen und geladenen Ionen im Plasma wird auch die Probe in geladene Ionen zerlegt und zu einer Lichtemission angeregt. Durch eine simultane Analyse wird das emittierte Licht über einen Polychromator in die charakteristischen Wellenlängen der jeweiligen Elemente aufgespalten. Im Anschluss wird die Lichtintensität von fest installierten Photomultipliern detektiert und die einzelnen Wellenlängen im Emissionsspektrum können mit einem sequentiell arbeitenden Monochromator in hoher Auflösung erfasst werden. Der Nachweis dieser Wellenlängen im optischen Spektrometer ermöglicht somit die Bestimmung der genauen elementaren Zusammensetzung.^[142]



Abbildung 4.8: Verwendetes Gerät für induktiv gekoppelte Plasma-optische Emissionsspektroskopien: Vista MPX von VARIAN.

Vor der Probenanalyse wurde zunächst die Gerätekalibrierung mit frisch hergestellten Standardlösungen mit definierten Konzentrationen (10 ppm und 20 ppm) der zu bestimmenden Elemente durchgeführt. Außerdem mussten genau abgewogene Mengen

der festen Proben vor der Analyse in einem definierten Volumen einer wässrigen Lösung von HNO_3 zersetzt werden. Nach der Probenanalyse wurde die genaue Menge jedes zu bestimmenden Elements (in ppm) auf der Grundlage der jeweiligen Kalibriermessungen in der entsprechenden ICP Expert-Software berechnet.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die elementare Zusammensetzung von Proben mit der ICP-OES-Spektroskopie sehr genau bestimmt werden kann. Im Vergleich zu weniger präzisen Techniken wie der EDX-Spektroskopie ist aber vor der Messung viel Vorbereitung erforderlich und daher sind die Messungen recht zeitaufwändig.

ICP-OES-Analysen ermöglichen den Nachweis fast aller Elemente mit Ausnahme verschiedener Elemente wie C, N, O, Halogene sowie Edelgasen. Daher war es möglich, die wichtigsten Elemente für diese Arbeit, d.h. Fe für den Fe_3O_4 -Kern, Zn für die MOFs und As für die arsen-basierten Medikamente, und deren Verhältnis zueinander zu bestimmen. Als komplementäre Techniken wurden jedoch stets EDX-Spektroskopie und CHNS-Elementaranalysen durchgeführt.

4.8. CHNS-Elementaranalyse

Um die Massenanteile von C, H, N und S der hergestellten Proben zu bestimmen, wurden Elementaranalysen mit dem Vario EL III (Elementar-Analysensysteme GmbH) in der Arbeitsgruppe von Prof. Scherer am Lehrstuhl für Chemische Physik und Materialwissenschaften der Universität Augsburg durchgeführt (**Abbildung 4.9**). Hierbei kommt die sogenannte "Purge and Trap-Technologie" zum Einsatz: Nach der Verbrennung von ca. 3 mg der Probe bei ca. 1000 °C erfolgt eine Gasabscheidung mit selektiven Fallensäulen und es wird die Menge an CO_2 , H_2O , N_2 und SO_2 detektiert, sodass anhand von Kalibrierproben die genauen Mengen an C, H, N und S in der Probe berechnet werden können.^[143]



Abbildung 4.9: Verwendetes Gerät für Elementaranalysen: Vario EL III.

Da die Anteile von Fe, Zn und As durch EDX- und ICP-OES-Spektroskopie im Rahmen dieser Arbeit bestimmt wurden, war die Bestimmung der entsprechenden Massenanteile von C, H und N sehr wichtig. Zum einen um die Intaktheit der MOF-Netzwerke zu überprüfen und zum anderen um zu zeigen, dass die organischen Liganden der MOF-Netzwerke teilweise durch die arsenhaltigen Wirkstoffe ersetzt wurden. Zum Nachweis der Intaktheit eines MOF-Netzwerkes wurde bestimmt, wie viele Liganden im arzneimittelfreien MOF-Netzwerkes pro Zinkkation vorhanden sind. Die erhaltene Abweichung zur theoretischen Summenformel wurde demzufolge auf geringfügige Mängel des Netzwerkes zurückgeführt. Zum Nachweis des partiellen Ligandenaustauschs wurde die Menge der fehlenden Liganden im Wirkstoff-beladenen MOF bestimmt und anschließend mit der Menge des beladenen Wirkstoffs verglichen, die mit komplementären Techniken wie EDX-Spektroskopie und ICP-OES-Spektroskopie bestimmt wurde.

4.9. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Die zytotoxische Wirkung der hergestellten Proben wurde durch *in vitro* Zytotoxizitätsstudien in der Arbeitsgruppe von Dr. Kerl am Universitätsklinikum Münster ermittelt. Dafür wurden Zellen in einer 96-Well Platte in einer definierten Dichte von 7.000 (ATRT-311FHTC), 4.000 (ATRT-CHLA-02), 8.000/3.000 (BT12), 4.000/2.000 (BT16), 4.000 (Fibroblasten) oder 750 (LLC-PK1) Zellen pro Well (Vertiefung) ausgesät. Die dafür verwendeten Zellen wurden als Geschenke erhalten: ATRT-311 FHTC-Zellen vom Olson Lab, Fred Hutchinson Cancer Research Center (Seattle, USA), ATRT-CHLA-02-Zellen von der American Tissue Culture Collection ATCC (Manassas, VA, USA), BT12-Zellen von Marc Remke (Universität Düsseldorf, Deutschland), BT16-Zellen von Martin Hasselblatt (Universität Münster, Deutschland), Fibroblasten von Niki Loges (Universität Münster, Deutschland) und LLC-PK1-Zellen von Giuliano Ciarimboli (Universität Münster, Deutschland). Die ATRT-Zellen wurden in Suspension gezüchtet und mit DMEM/F12-Medium, das mit 2 % B27-Zusatz, 1 % N₂-Zusatz, 1 % Penicillin und 1 % Streptomycin, 20 ng/mL EGF und 20 g/mL FGF kultiviert. Die Fibroblasten und LLC-PK1-Zellen wurden adhärent gezüchtet und in DMEM – einem Basalmedium, das mit 20 % FBS, 1 % Penicillin und 1 % Streptomycin kombiniert wurde - kultiviert. Alle Zellen wurden in 5 % CO₂ bei 37 °C kultiviert. Die Identität aller Zelllinien wurde durch STR-PCR bestätigt.

Nach 24 h wurden die Zellen mit steigenden Konzentrationen (Konzentrationsbereich 0-100 µM, berechnet in Bezug auf die konstante As- oder Zn-Menge) der hergestellten Proben behandelt und 24 h oder 72 h inkubiert. Zur Analyse der Zellviabilität wurden 10 µL 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid (MTT, **Abbildung 4.10a**) zugegeben, da lebensfähige Zellen dieses in einen unlöslichen, violett gefärbten Formazanfarbstoff umwandeln (**Abbildung 4.10c**). Mit einem Multiskan Ascent Microplate Reader (Thermo

Electron Corporation) wurde die Auswertung des MTT-Tests durchgeführt (**Abbildung 4.10b**).^[144] Dabei wurden die Absorptionen bei einer Wellenlänge von 570 nm und einer Referenzwellenlänge von 630 nm gemessen und anschließend wurden die Daten mit der GraphPad Prism-Software Version 7.00 bzw. 7.03 analysiert.

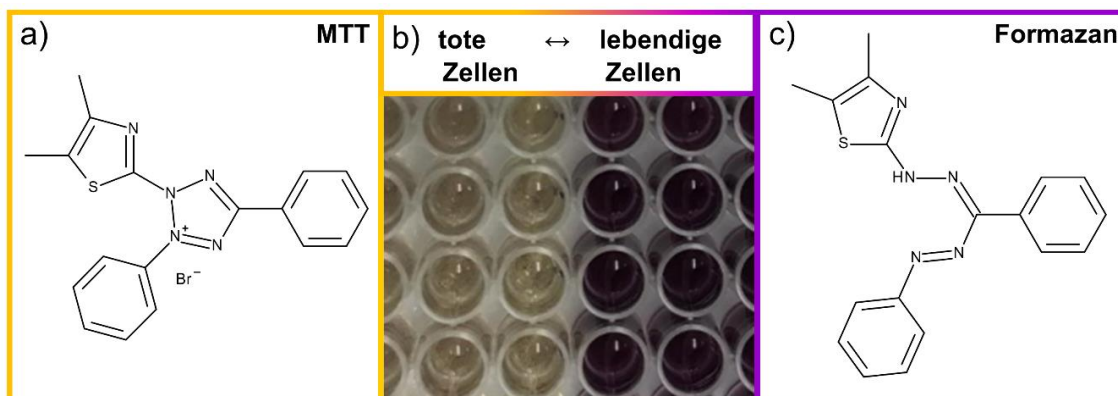


Abbildung 4.10: Farbstoffe und Aufbau des MTT-Tests: (a) 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid, (b) Bild von toten und lebenden Zellen in der 96-Well Platte nach dem MTT-Test und (c) (E,Z)-5-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-1,3-diphenylformazan.

Alle Zytotoxizitätsstudien wurden jeweils in biologischen Triplikaten durchgeführt und die erhaltenen Daten wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse (one-way ANOVA) analysiert. Die statistische Signifikanz wurde für $p \leq 0,05$ angenommen. Ein einfaches Sternchen steht für $p \leq 0,05$, ein doppeltes Sternchen für $p \leq 0,01$, ein dreifaches Sternchen für $p \leq 0,001$ und vier Sternchen stehen für $p \leq 0,0001$. Die mittlere inhibitorische Konzentration (zu engl.: inhibitory concentration, IC_{50} -Wert) wurden mittels nichtlinearer Regressionsanalyse berechnet. Der IC_{50} -Wert entspricht dabei genau derjenigen Wirkstoff-Konzentration, bei der eine Hemmung des Zellwachstums um 50% hervorgerufen wird. Für alle statistischen Analysen wurde die Software GraphPad Prism 7.03 verwendet.

4.10. Supraleitende Quanteninterferenzeinheit

Die magnetischen Eigenschaften der Fe_3O_4 -Proben wurden mit einer supraleitenden Quanteninterferenzeinheit (zu engl.: Superconducting *Quantum Interference Device* = SQUID) in der Arbeitsgruppe von Priv.-Doz. Dr. Krug-von-Nidda am Lehrstuhl für Experimentalphysik V der Universität Augsburg mit einem Quantum Design MPMS 5 SQUID-Magnetometer untersucht. Ein SQUID besteht aus einer makroskopischen, geschlossenen supraleitenden Schleife, die an einer Stelle durch ein normalleitendes oder elektrisch isolierendes Material unterbrochen ist. Dieser sogenannte Josephson-Tunnelkontakt ermöglicht eine hochgenaue Messung des magnetischen Flusses und daher

eignen sich SQUIDs zu einer sehr präzisen Messung extrem geringer Magnetfeldänderungen.^[145]

Dies ist insbesondere für die Beurteilung der superparamagnetischen Eigenschaften der hergestellten Fe_3O_4 -Proben essenziell. Denn superparamagnetisches Verhalten kann verifiziert werden, wenn die Proben weder remanente Magnetisierung in Abwesenheit eines externen Magnetfeldes noch magnetische Hystereseeffekte zeigen. Daher wurden, ausgehend von $M=0$ bei $H=0$ bei steigendem Feld, Magnetisierungskurven $M(H)$ als Funktion des externen Magnetfeldes H bei konstanter Temperatur in einem Feldbereich zwischen -50 kOe und +50 kOe aufgezeichnet. Vor der Messung wurden alle Proben aktiviert, sodass ein genauer Wert für die Magnetisierung (ausgedrückt in emu/g) gewährleistet war.

4.11. Magnetresonanz-Relaxation und -Tomographie

Die MR-Relaxometrie wurde in der Arbeitsgruppe von Dr. Jirák am Institut für Klinische und Experimentelle Medizin in Prag bestimmt. Während des gesamten Experiments wurde ein 1,5 T Minispec 60 MHz Relaxometer (Bruker Biospin, Deutschland) bei einer stabilisierten Temperatur von 37 °C verwendet. Zunächst wurden die charakteristischen $T_{1/2}$ -Relaxationszeiten bestimmt, die angeben wie lange der Signalmechanismus der magnetischen Resonanz benötigt, um zum Ausgangszustand zurückzukehren. Die T_1 -Relaxationszeiten, also Zeiten die zur Relaxation der longitudinalen Magnetisierung benötigt werden, wurden hierbei mit der Inversion Recovery Sequenz gemessen. Die T_2 -Relaxationszeiten, also Zeiten die zur Relaxation der transversalen Magnetisierung benötigt werden, wurden dagegen mit der Carr-Purcell-Meiboom-Gill Sequenz bestimmt. Danach wurden die Relaxivitätsraten $r_{1,2}$ ($r_1 = 1/T_1$ und $r_2 = 1/T_2$) durch die Kurvenanpassung der kleinsten Quadrate von R_1 , R_2 Relaxationsraten (s^{-1}) gegen die Eisenkonzentration (mM) berechnet. Daher wurde die exakte Fe-Menge aller Proben vor der Messung mittels ICP-OES-Spektroskopie bestimmt. Anschließend wurden diese in Bezug auf äquivalente Fe-Mengen eingewogen und in 2 mL demineralisiertem Wasser verdünnt, was einen Fe-Konzentrationsbereich von 0,1 - 1,5 mM ergab. Um schließlich eine Sedimentation der Probe während der Messung ($t = 5$ min) zu verhindern, wurden die Proben in 1%iger Agarlösung fixiert. Das resultierende r_2/r_1 -Verhältnis der Proben ist sehr wichtig für die Einstufung als Kontrastmittel. Liegt das Verhältnis unter 1, erscheinen die aufgenommenen MR-Bilder hell und das Kontrastmittel wird als "positiv" klassifiziert.^[92] Ist das Verhältnis größer als 1, erscheinen die aufgenommenen MR-Bilder dunkel, sodass das Kontrastmittel als "negativ" klassifiziert wird.^[92]

Die entsprechenden T_1 - und T_2 -gewichteten MR-Bilder der Phantome, die die Proben enthielten, wurden auf einem 4,7 T Bruker Biospec-Scanner mit einer Resonatorspeule

(Bruker, Biospin, Deutschland) aufgenommen. Während des MR-Bildgebungsexperiments wurde ein starker Signalabfall, insbesondere in T_2 -gewichteten MR-Bildern, gewünscht, um weiter zu beweisen, dass die Proben einen guten MR-Kontrast liefern.

4.12. Quantenmechanische Rechnungen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden zahlreiche quantenmechanische Rechnungen von Professor Dr. Dirk Volkmer durchgeführt. Hierbei wurden für arsenhaltige MFU-4l Nanopartikel zum einen DFT-Berechnungen an drei Modell-Komplexen durchgeführt, die Zinkionen in einer tetraedrischen Koordinationsumgebung aufweisen, welche strukturell analog zu den Zinkionen in der sekundären Baueinheit von MFU-4l sind. Alle DFT-Rechnungen wurden mit DMol³ durchgeführt, das Bestandteil des BIOVIA Materials Studio Rel. 2018 ist.^[146,147] Die Geometrie der Komplexe wurde vollständig verfeinert [PBE-GGA mit Singulett-Spin-Beschränkung, numerischer All-Elektronen DNP-Basisatz (4.4 Basis)]. Zum anderen wurde eine DFT-Rechnung an einem Arsenit-ausgetauschten 3D-periodischem Gittermodell von MFU-4l-(O-As(-OH)₂) wurde mit CASTEP als Bestandteil von BIOVIA Materials Studio Rel. 2018 durchgeführt.^[148] Die Geometrie des Kristallgitters wurde unter Verwendung von Plane-Wave-DFT-Rechnungen (PBE-GGA, Norm-erhaltende Pseudopotentiale mit einer auf die Plane-Wave-Basis eingestellten Energieobergrenze von 830 eV) vollständig optimiert. Die Rechnungen wurden in der primitiven Repräsentation der konventionellen raumzentrierten tetragonalen Zelle zu der Raumgruppe $I 4/m$ (Nr. 87) durchgeführt. Die tetragonale Aufstellung sollte die höchstmögliche kristallographische Symmetrie von Arsenit-ausgetauschtem MFU-4l darstellen, das selbst in einem kubischen Kristallsystem kristallisiert (Raumgruppe $F m\bar{3}m$, Nr. 225).

Um die Kristallstruktur und die Schwingungseigenschaften von arsenhaltigen ZIF-8 Nanopartikeln zu simulieren, wurden DFT+D-Gittergeometrie-Optimierungen mit dem CASTEP-Code durchgeführt, (PBE-GGA unter Verwendung von im-Flug generierten Norm-erhaltenden Flächenwellen-Pseudopotentialen (Energie-Cutoff: 1380 eV) und einer semi-empirischen Dispersionskorrektur für nicht-bindende Wechselwirkungen nach dem von Tkatchenko und Scheffler vorgeschlagenen Schema.^[148–150] Die Phonon-Frequenzen wurden mit Hilfe von CASTEP DFPT-L Linear Response-Rechnungen am γ Punkt der konvergierten primitiven Zelle ermittelt.^[151]

5. Ergebnisse und Diskussion

5.1. MFU-4l Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

Im Rahmen dieser Dissertation wurde zunächst die Metall-organische Gerüstverbindung MFU-4l^[84] auf ihre Eignung als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe genau untersucht. Im nachfolgenden Kapitel wird die Synthese, Arsen-Beladung und umfassende Charakterisierung basierend auf der dazu entstandenen Veröffentlichung „Metal-organic framework nanoparticles for arsenic trioxide drug delivery“ im *Journal of Materials Chemistry B* beschrieben.^[152]

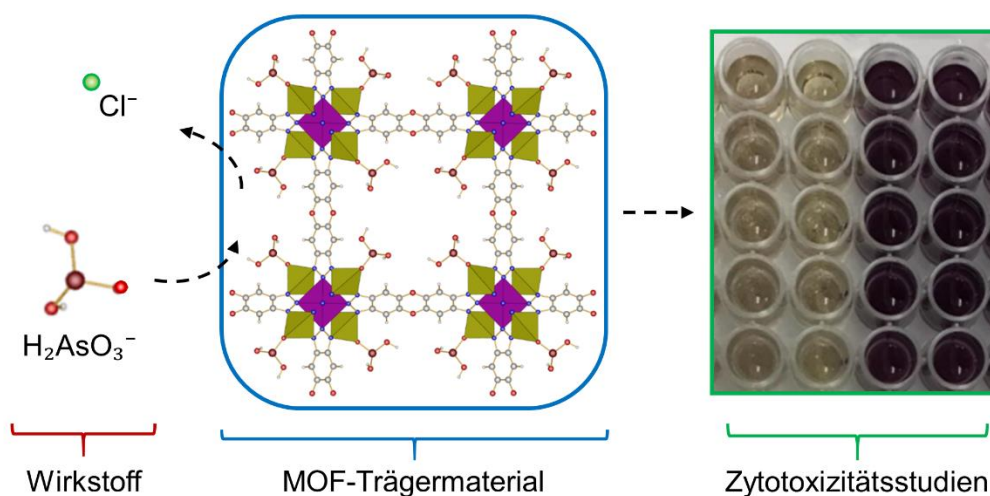


Abbildung 5.1: As_2O_3 wurde über postsynthetischen Ligandenaustausch als Anion in die MOF-Nanopartikel eingebracht und die Materialzytotoxizität wurde mittels *in vitro* Zytotoxizitätsstudien untersucht.^[152]

5.1.1. Einleitung

Obwohl die zahlreichen Vorteile von Drug Delivery Systemen seit langem bekannt sind, gibt es in der Literatur nur wenige Beispiele für geeignete Arsentrioxid-Trägermaterialien.^[153] Da bereits gezeigt wurde, dass eine postsynthetische Bindung von kationischen^[154] oder organischen Wirkstoffen mit geeigneten funktionellen Gruppen (COOH , Phosphate usw.)^[20,155] an den Metallzentren von MOFs möglich ist, wurde die Metall-organische Gerüstverbindung MFU-4l als erstes Modellbeispiel für die Bindung von arsenhaltigen Wirkstoffen ausgewählt. Wie in **Kapitel 2.3** erwähnt, besteht MFU-4l aus Zn(II) -Ionen und bis(1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*],[4',5'-*i*])dibenzo[1,4]dioxin-Liganden ($\text{H}_2\text{-BTDD}$) und beinhaltet Chlorid-Anionen als Seitenliganden zum Ladungsausgleich in der Struktur (**Abbildung 5.2**). Diese Chlorid-Seitenliganden können postsynthetisch gegen verschiedene kleine Moleküle wie Stickstoffmonoxid, Stickstoffdioxid sowie Alkylgruppen ausgetauscht werden^[86,87,156]

und daher sollte der Austausch von Chlorid-Anionen gegen H_2AsO_3^- -Anionen untersucht werden. Durch eine derartige Integration von arsenhaltigen Wirkstoffen in das MFU-4l Netzwerk wäre eine kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung möglich, was insbesondere bei der Verabreichung hochtoxischer Wirkstoffe wie Arsentrioxid entscheidend ist.

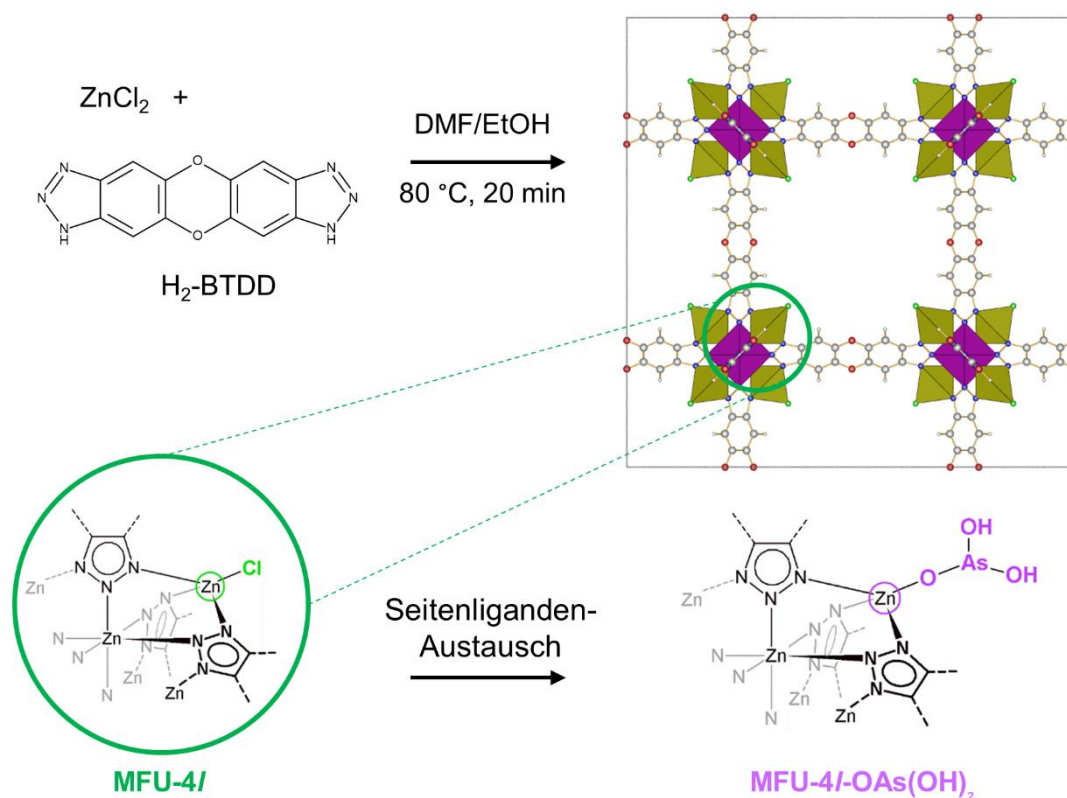


Abbildung 5.2: Schematischer Syntheseweg und Kristallstruktur von MFU-4l mit einem detaillierten Einblick auf die Koordinationsumgebung der Zinkionen und dem möglichen Seitenligandenaustausch eines Chlorid-Anions durch ein H_2AsO_3^- -Anion zur Bildung von MFU-4l-OAs(OH)₂.

Im Folgenden wurden die hergestellten Wirkstoff-Trägermaterialien mittels FT-IR, TGA, XRPD, SEM-EDX, TEM, DLS, ICP-OES und Sorptionsanalysen charakterisiert. Desweiteren wurden Studien zur Wirkstoff-Freisetzung bei verschiedenen pH-Werten und *in vitro* Zytotoxizitätstests mit verschiedenen Zelllinien durchgeführt.

5.1.2. Synthese der MFU-4l Nanopartikel

Wenn ein MOF als Wirkstoff-Trägermaterial in der Krebstherapie eingesetzt werden soll, ist die Reduzierung seiner Partikelgröße auf die Nanoskala entscheidend. Daher wurde die originale MFU-4l Synthese in Anlehnung an Erkenntnisse eines strukturell verwandten MOFs namens MFU-4 modifiziert.^[157] Im Vergleich zur ursprünglichen Synthese wurde die Reaktionszeit von 18 h auf 30 min verkürzt, die Reaktionstemperatur von 145°C auf 80°C

gesenkt und anstelle von reinem Dimethylformamid (DMF) ein Lösungsmittelgemisch aus DMF/Ethanol (1 : 1) verwendet.^[84]

Zunächst wurde der Ligand H₂-BTDD (200 mg, 0,757 mmol) in DMF (200 mL) in einem 1-L-Rundkolben dispergiert und innerhalb von 20 min bei 145 °C gelöst. Nach dem Abkühlen auf 80 °C wurden 200 mL einer 0,076 M ethanolischen Zinkchloridlösung zugegeben und die Reaktionsmischung wurde unter Rühren für weitere 30 Minuten bei 80 °C gehalten. Das Produkt wurde anschließend mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert, über Nacht in DMF (15 mL) gelagert und schließlich zweimal mit Methanol gewaschen. Um Lösungsmittelrückstände aus den Poren zu entfernen, wurden die MFU-4l-Nanopartikel bei 160 °C unter Hochvakuum 15 h lang getrocknet. Das Endprodukt wurde als cremefarbenes Pulver in einer sehr hohen Ausbeute (270 mg, 98 % bezogen auf Ligand) erhalten. Die Produktkristallinität und Phasenreinheit wurden durch XRPD-Messungen bestätigt (**Abbildung 5.5b**), die mit dem simulierten Diffraktogramm übereinstimmen. Um die Bildung von Nanopartikeln zu bestätigen und deren Größe zu bestimmen, wurden TEM-Aufnahmen sowie DLS-Messungen gemacht, die tatsächlich Kristallgrößen um 100 nm verifizierten (**Abbildung 5.3** und **Tabelle A1**).

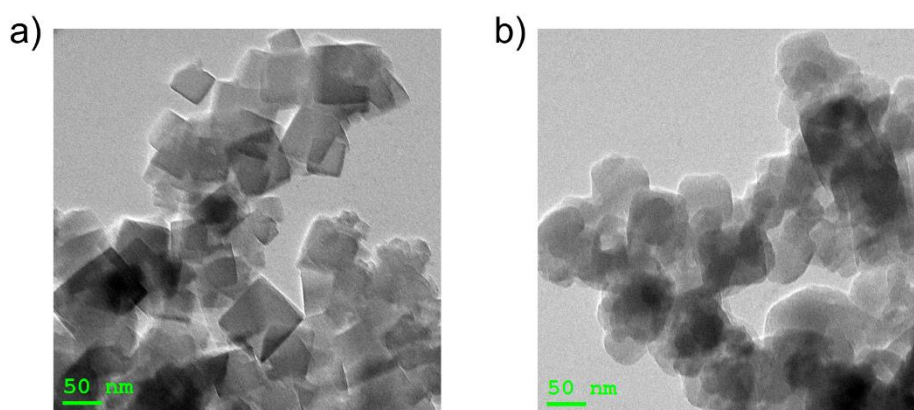


Abbildung 5.3: TEM-Aufnahmen von MFU-4l-Nanopartikeln (a) vor und (b) nach der Medikamentenbeladung; Maßstabsbalken: 50 nm.

5.1.3. Wirkstoff-Beladung

Um den ausgewählten Wirkstoff ATO auf sichere und kontrollierte Weise freisetzen zu können, sollte er über eine koordinative Bindung in Form eines H₂AsO₃⁻-Anions an das Trägermaterial MFU-4l gebunden werden. Zuerst wurde Arsentrioxid (1 Äq. As₂O₃, 98,92 mg, 0,5 mmol) mit Tetramethylammoniumhydroxid (1 Äq., 0,28 M methanolische Lösung, 3,51 mL) in einem 10 mL Messkolben gemischt und mit Methanol auf ein Gesamtvolumen von 10 mL verdünnt, um Tetramethylammoniumdihydrogenarsenit {[(CH₃)₄N]H₂AsO₃} herzustellen. Daraufhin wurde der Austausch des Chlorid-Seitenliganden in der Struktur

von MFU-4l durchgeführt. 250 mg frisch synthetisierte MFU-4l-Nanopartikel wurden 30 min lang in 25 mL der 0,1 M methanolischen Lösung von $\{[(\text{CH}_3)_4\text{N}]\text{H}_2\text{AsO}_3\}$ dispergiert, mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert, zweimal mit Methanol gewaschen und anschließend bei 100 °C bei Umgebungsdruck getrocknet, um restliche Lösungsmittelmoleküle aus den Poren zu entfernen. Die Beladung der MFU-4l-Nanopartikel $[\text{MFU-4l-OAs}(\text{OH})_2]$ mit den As(III)-Spezies wurde mittels verschiedener analytische Methoden wie FT-IR-Spektroskopie, EDX-Spektroskopie, ICP-OES-Analyse, Argon-Adsorptionsmessungen und XRPD-Analyse charakterisiert und quantifiziert.

Die IR-Spektroskopie erwies sich dabei als eine sehr nützliche Methode, um den Seitenligandenaustausch in der MFU-4l-Struktur zu verifizieren und zu qualifizieren. Im gemessenen FT-IR-Spektrum wurden neue Banden im Bereich von 800 bis 500 cm^{-1} beobachtet (**Abbildung 5.4** und **Abbildung A5**). Gemäß Literaturangaben, entsprechen die Banden bei 570, 610 und 790 cm^{-1} den symmetrischen und asymmetrischen Moden von $\text{As}(\text{OH})_2$ und As-O-Streckschwingungen.^[158] Dies wurde zudem durch eine quantenmechanische Simulation der IR-Spektren verschiedener anionischer As(III)-Spezies bestätigt (**Tabelle A3**, **Abbildung A6** und **Abbildung A7**). Sowohl die quantenmechanische Modellierung als auch die FT-IR-Spektroskopie bestätigten somit, dass die Chlorid-Seitenliganden in MFU-4l erfolgreich gegen die H_2AsO_3^- -Anionen ausgetauscht und, dass dadurch $\text{MFU-4l-OAs}(\text{OH})_2$ gebildet wurde (**Abbildung 5.2**).

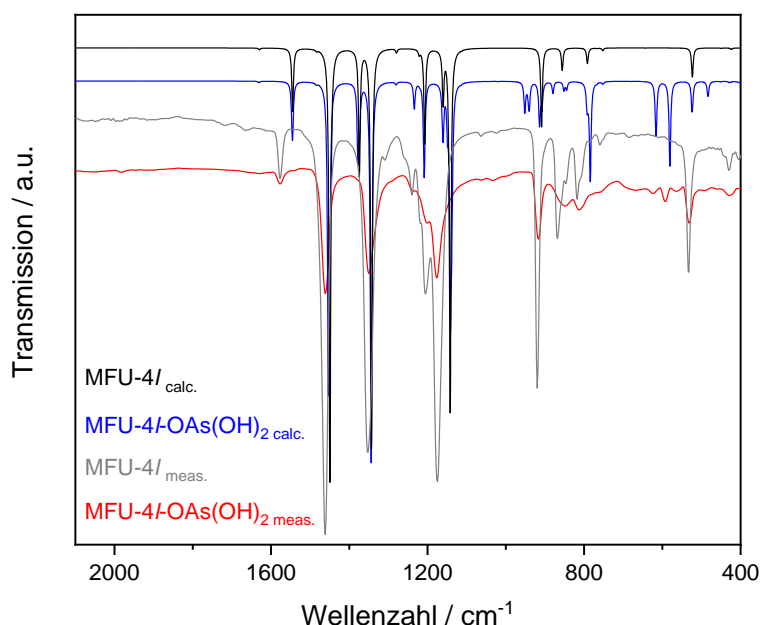


Abbildung 5.4: Vergleich der modellierten IR-Spektren von MFU-4l (schwarz) und $\text{MFU-4l-OAs}(\text{OH})_2$ (blau) mit gemessenen FT-IR-Spektren von MFU-4l (grau) und $\text{MFU-4l-OAs}(\text{OH})_2$ (rot) im Bereich von 2100 bis 400 cm^{-1} .

Tabelle 5.1: Ergebnisse der EDX Spektroskopie, ICP-OES and Sorptions-Analyse beim Seitenligandenaustausch in MFU-4l.

Analyse	MFU-4l	MFU-4l-OAs(OH) ₂	PEG@MFU-4l-OAs(OH) ₂
EDX, n(Zn) : n(As) : n(Cl)	5 : 0 : 4	5 : 3,8 : 0,2	5 : 3,7 : 0,1
ICP-OES, n(Zn) : n(As)	5 : 0 : –	5 : 3,44 : –	5 : 3,40 : –
Gemessene spez. Oberfläche (Ar, 77 K)	3580 m ² ·g ⁻¹	2755 m ² ·g ⁻¹	–
Berechnete spez. Oberfläche (Poreblazer ^[137])	3184 m ² ·g ⁻¹	2562 m ² ·g ⁻¹	–

Um das Ausmaß des Seitenligandenaustauschs zu quantifizieren, wurden EDX-Spektroskopie und ICP-OES-Analyse durchgeführt (**Tabelle 5.1**). Basierend auf den Ergebnissen wurden mehr als 86 % der Chloridionen gegen die H₂AsO₃⁻-Anionen ausgetauscht. Folglich konnte eine Beladungskapazität von 180 mg As bzw. 237 mg As₂O₃ pro 1 g des gesamten Materials erzielt werden.

Aufgrund des Austauschs des Chlorids mit H₂AsO₃⁻-Anionen würde man eine Abnahme der spezifischen Oberfläche erwarten. Tatsächlich ergab die Adsorptionsanalyse eine BET-Oberfläche, die im Bereich $p/p_0 = 0,06-0,1$ bestimmt wurde, von 2755 m²·g⁻¹, was im Vergleich zum Material ohne Seitenligandenaustausch zu einer deutlichen Abnahme der BET-Oberfläche führte (**Tabelle 5.1**). Dieser Wert stimmt gut mit der berechneten spezifischen Oberfläche von 2562 m²·g⁻¹ überein, die aus dem Kristallmodell von MFU-4l-OAs(OH)₂ (siehe **Abbildung 5.2a**) mit der Poreblazer-Software erhalten wurde.^[137] Die Argon-Adsorptionsisothermen für beide Proben zeigten das Sorptionsverhalten vom Typ I, das für mikroporöse Feststoffe charakteristisch ist (**Abbildung A1**). Die bei 77 K und $p/p_0 = 0,99$ erreichte maximale Aufnahme betrug 1260 cm³·g⁻¹ für MFU-4l und 1190 cm³·g⁻¹ für MFU-4l-OAs(OH)₂, was einem Gesamtporenvolumen von 1,32 cm³·g⁻¹ bzw. 1,11 cm³·g⁻¹ entspricht. Zur Bewertung der Porengrößenverteilung wurde für MFU-4l-OAs(OH)₂ die Argon-Adsorptionsisotherme bei 77 K aufgenommen, die mit Hilfe der nicht-lokalen Dichtefunktionaltheorie (NLDFT)^[159] analysiert wurde. Als Grundlage wurde dafür die Argon-Adsorption an einem Kohlenstoff-Schlitzporen-Modell verwendet.^[160] Die Auswertung der Adsorptionsdaten ergab eine Porengrößenverteilung von Mikroporen im Bereich von 11-18 Å und mit Maxima bei 13 und 16 Å (**Abbildung A2**). Im Vergleich zu den Literaturdaten für MFU-4l (11-20 Å)^[84] liegt der ermittelte Bereich für MFU-4l-OAs(OH)₂ etwas niedriger, was jedoch aufgrund des Seitenligandenaustauschs erwartet werden konnte und mit den Ergebnissen der spezifischen Oberfläche übereinstimmt.

Desweiteren hat die Integration der anionischen As(III)-Liganden nicht nur die spezifische Oberfläche beeinflusst, sondern auch die durch die Pulverdiffraktometrie bestimmte

Symmetrie der Kristallstruktur (**Abbildung 5.5b**). Die entsprechenden Einzelheiten der Kristallstrukturdaten von MFU-4l und MFU-4l-OAs(OH)₂ sind in **Tabelle A4** und **Abbildung A8** zusammengefasst. Beispielsweise kann bei 4.5 ° ein neuer Reflex im gemessenen Pulverdiffraktogramm der arsenhaltigen Probe beobachtet werden, was in guter Übereinstimmung mit dem berechneten Pulverdiffraktogramm der modellierten, arsenhaltigen Struktur ist.

Die thermische Stabilität von MFU-4l-OAs(OH)₂, die mittels temperaturabhängiger Pulverdiffraktometrie und thermogravimetrischer Analyse untersucht wurde (**Abbildung A3** und **Abbildung A4**), war im Vergleich zu den MFU-4l-Nanopartikeln nur geringfügig niedriger, was für die Unversehrtheit der Struktur bei der Beladung spricht.

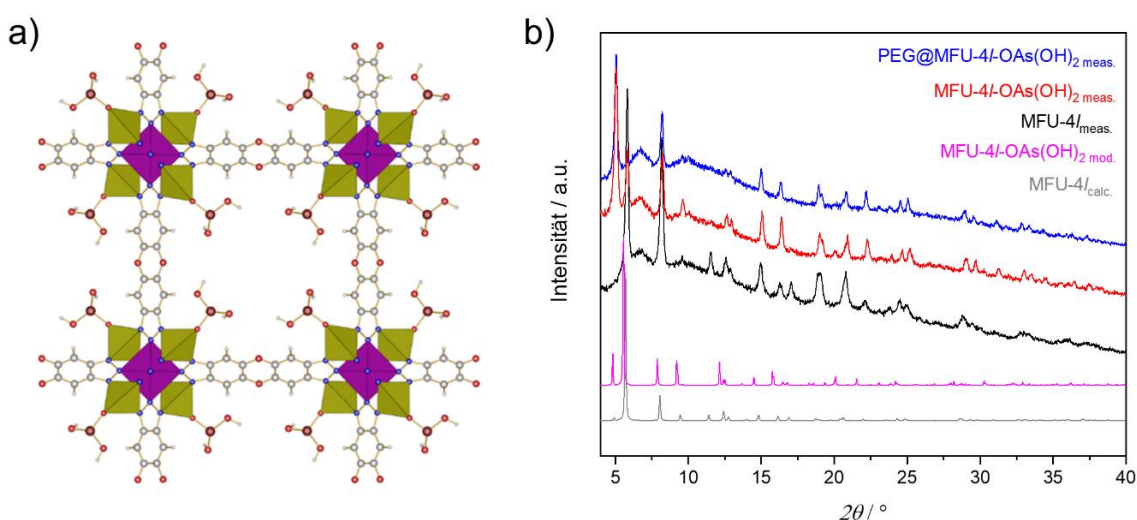


Abbildung 5.5: (a) Modellierter Kristallstruktur von MFU-4l-OAs(OH)₂ (Berechnungsdetails siehe **Kapitel A.2**) und (b) Vergleich der berechneten Röntgenpulverdiffraktogramme von MFU-4l (grau) und MFU-4l-OAs(OH)₂ (rosa), und den gemessenen Röntgenpulverdiffraktogrammen von MFU-4l (schwarz), MFU-4l-OAs(OH)₂ (rot) und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (blau).

Die erfolgreiche Kombination von MFU-4l und H₂AsO₃⁻ stellt damit einen neuartigen Ansatz für das Design eines ATO-Trägermaterials dar, der sich durch eine definierte ATO-Bindung und eine hohe ATO-Beladungskapazität (ca. 180 mg As bzw. 237 mg As₂O₃ pro 1 g des gesamten Materials) auszeichnet.

5.1.4. Beschichtung der Nanopartikel

Zur Verbesserung der Materialstabilität und Biokompatibilität wurden MFU-4l-OAs(OH)₂-Nanopartikel mit Polyethylenglykol (mit einer durchschnittlichen Molekularmasse von 6000, PEG 6000) beschichtet, einem im Bereich der Medikamentenverabreichung gut etablierten Polymer.^[161] Dazu wurden 100 mg MFU-4l-OAs(OH)₂ in 10 mL einer 1,6 mM

methanolischen Lösung von Polyethylenglykol (PEG 6000) dispergiert und 30 min bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschließend wurde die Probe [PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂] mittels Zentrifuge isoliert, dreimal mit Methanol gewaschen und unter Umgebungsdruck bei Raumtemperatur getrocknet.

Die erfolgreiche Beschichtung der Nanopartikel wurde durch IR-Spektroskopie bestätigt. Im FT-IR-Spektrum der beschichteten Probe (**Abbildung A5**) konnten die Banden bei 1290, 1230, 1100, 950 und 840 cm⁻¹ den entsprechenden C-H Biegeschwingungen, O-H und C-O-H Streckschwingungen zugeordnet werden. Außerdem wurde durch thermogravimetrische Analyse nachgewiesen, dass der PEG 6000-Gehalt etwa 3 Gew.-% betrug (**Abbildung A4**). Der Arsen-Gehalt in den beschichteten Nanopartikeln wurde durch EDX-Spektroskopie und ICP-OES-Analyse bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass immer noch mehr als 85 % der Chlorid-Liganden durch H₂AsO₃⁻-Anionen ausgetauscht waren und dementsprechend die Beladungskapazität der unbeschichteten Probe erhalten blieb (**Tabelle 5.1**).

Prinzipiell basiert die Beschichtung der Nanopartikel hierbei auf nichtkovalenten Wechselwirkungen, sodass ein Teil der Polymermoleküle teilweise im Inneren der Poren eingeschlossen sein kann. Um dies zu vermeiden, könnten alternativ einige der kürzlich berichteten kovalenten Oberflächenbeschichtungsmethoden verwendet werden.^[162] In **Kapitel 5.4** wird genauer auf die Beschichtung von MOF Nanopartikeln mit verschiedenen Polymeren eingegangen.

5.1.5. Wirkstoff-Freisetzung

Die Arsen-Freisetzung aus den Nanopartikeln MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ sowie die MOF-Stabilität wurde in der simulierten Mikroumgebung von tumorösem und gesundem Gewebe untersucht. Um dies zu tun, wurden phosphatgepufferte Kochsalzlösungen bei zwei verschiedenen pH-Werten, nämlich bei pH 6 für tumoröses- und bei pH 7,4 für gesundes Gewebe, bei 37 °C, also Körpertemperatur, verwendet. Dazu wurden jeweils in Triplikaten 10 mg arsenhaltige MFU-4l-Nanopartikel [MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂] in 10 mL einer 0,01 M phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei pH 6 oder bei pH 7,4 dispergiert. Die Menge an Arsen und Zink in der Lösung wurde durch ICP-OES-Analyse bestimmt, indem nach einer bestimmten Zeitspanne (30 min, 1 h, 4 h, 6 h, 24 h, 72 h und 168 h) 1 mL der Lösung zur Analyse entnommen und durch 1 mL einer frischen phosphatgepufferten Kochsalzlösung ersetzt wurde (**Abbildung 5.6**, **Abbildung A9** und **Tabelle A5**).

Die Arsen-Freisetzung aus MFU-4l-OAs(OH)₂ erfolgte recht schnell und erreichte innerhalb der ersten 30 Minuten etwa 75 % bei pH 6 und 60 % bei pH 7,4 (**Abbildung 5.6**). Nach 24

Stunden war die Freisetzung mit mehr als 90 % für beide getesteten pH-Werte fast vollständig abgeschlossen (**Tabelle A5**). Bei dem beschichteten PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ war die Arsen-Freisetzung innerhalb der ersten 30 Minuten deutlich verringert und zwar auf 55 % bei pH 6 und 35 % bei pH 7,4 (**Abbildung 5.6**). Nach 24 h wurde die fast vollständige Freisetzung bei pH 6 mit 90 % erreicht, während es im Vergleich dazu nur 80 % bei pH 7,4 waren (**Tabelle A5**). Diese Ergebnisse weisen eindeutig darauf hin, dass die Arsen-Freisetzung aus MFU-4l/pH-abhängig ist, denn sie ist schneller bei niedrigerem pH-Wert. Das deutet darauf hin, dass dieses MOF-Material sehr nützlich in der Krebstherapie sein könnte, bei der eine durch niedrigere pH-Werte ausgelöste Wirkstoff-Freisetzung erwünscht ist.^[163,164] Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Beschichtung der Nanopartikeloberfläche mit PEG als ein wirksames Mittel zur Beeinflussung der Wirkstoff-Freisetzungskinetik eingesetzt werden kann.

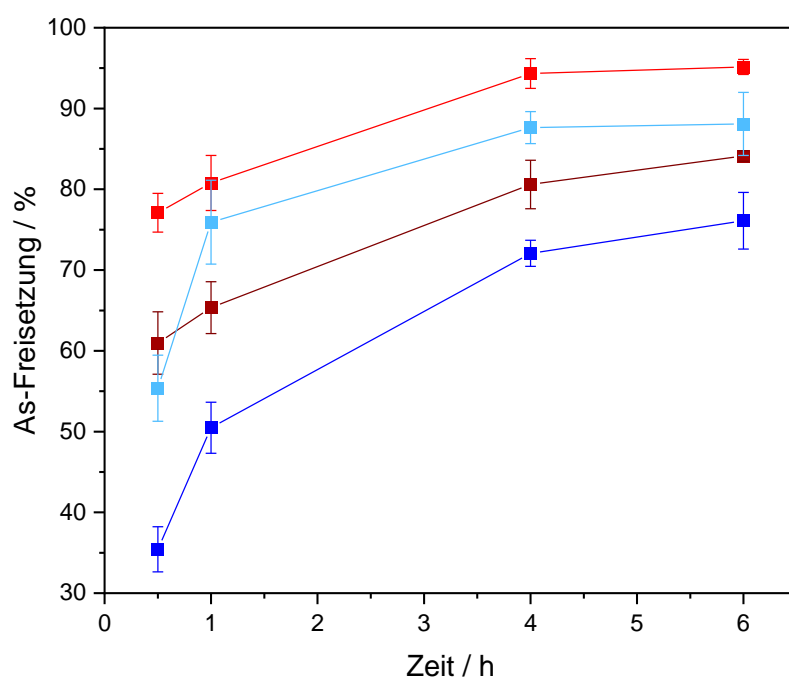


Abbildung 5.6: Arsen-Freisetzung aus MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ bei pH 6 (rot, hellblau) und pH 7,4 (dunkelrot, dunkelblau) in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei 37 °C; bestimmt durch ICP-OES.

Um die Stabilität des MOF-Trägermaterials zu untersuchen, wurden die in den Studien zur Wirkstoff-Freisetzung verwendeten Feststoffe nach 1, 24, 72 und 168 h isoliert, zweimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen und für 3 h bei 100 °C getrocknet. Anschließend wurde die Probe und mittels IR, XRPD und TGA analysiert (**Abbildung A10-Abbildung A21**). Die FT-IR-Spektroskopie zeigte eine Abnahme der Signalintensität der den Arsen-Spezies zugeordneten Banden, die mit der beobachteten Wirkstoff-Freisetzung übereinstimmte. Gleichzeitig wurde eine neue, breite Bande zwischen 1100 und 950 cm⁻¹

beobachtet, die HPO_4^{2-} zugeordnet werden konnte. Dies deutet darauf hin, dass die H_2AsO_3^- Anionen durch die Phosphat-Anionen aus der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ausgetauscht wurden (**Abbildung A10-Abbildung A13**). Darüber hinaus wurden mehrere zusätzliche Banden nachgewiesen. Diese Banden stimmen mit denen des Liganden $\text{H}_2\text{-BTDD}$ überein, was auf eine partielle Netzwerk-Zersetzung während der Studien zur Wirkstoff-Freisetzung hinweist. Eine ähnliche pH-abhängige Stabilität wurde auch bei einigen anderen Zn-MOFs auf der Basis von *N*-Donor-Liganden wie z.B. ZIF-8 beobachtet.^[90] Das Vorhandensein des freien Liganden, der in wässrigen Lösungen unlöslich ist, wurde zudem durch thermogravimetrische Analysen bestätigt (**Abbildung A14-Abbildung A17**).

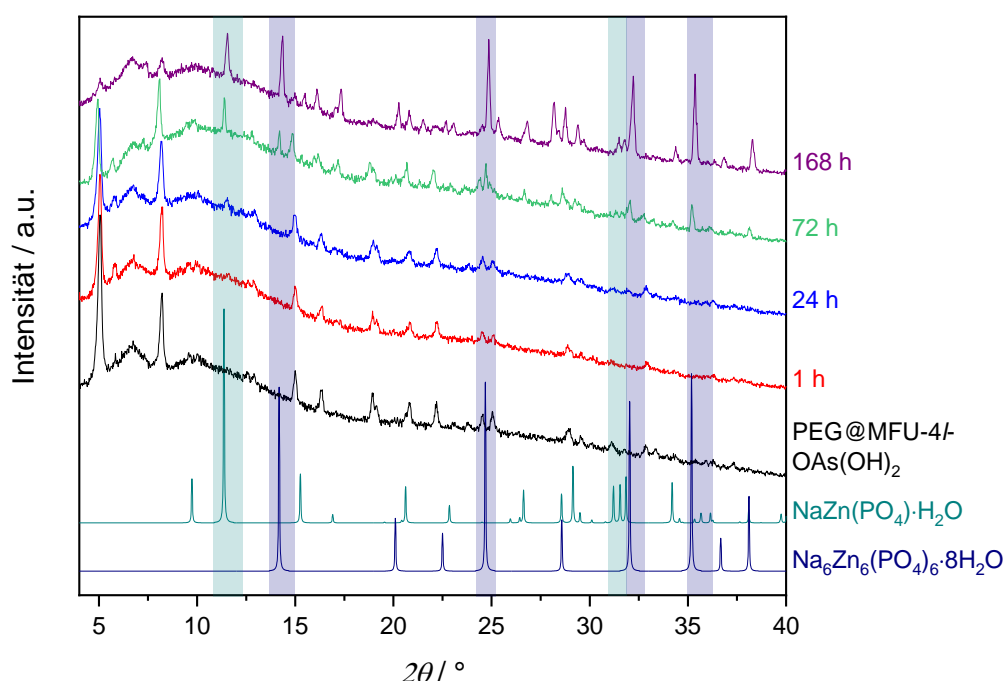


Abbildung 5.7: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz), PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführt wurden, und den Berechneten von NaZn(PO₄)·H₂O (türkis) und Na₆Zn₆(PO₄)₆·8H₂O (dunkelblau).

Die Pulverdiffraktogramme der bei pH 6 gehaltenen Feststoffe zeigten, dass das MOF weniger als 24 h stabil war und, dass die aus dem MOF freigesetzten Zink-Kationen mit den Phosphationen aus der phosphatgepufferten Kochsalzlösung unter Bildung von $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ und $\text{NaZn}(\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ reagierten (**Abbildung A18** und **Abbildung A20**). Im Gegensatz dazu war das bei pH 7,4 gelagerte MOF mindestens 72 h lang stabil und bildete bei der Zersetzung des Netzwerkes $\text{NaZn}(\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ und $\text{Na}_6\text{Zn}_6(\text{PO}_4)_6 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (**Abbildung 5.7, Abbildung A19** und **Abbildung A21**). Dieser Befund zeigt, dass die Wirkstoff-

Freisetzung nicht nur durch einen Seitenligandenaustausch, sondern auch durch die Netzwerk-Zersetzung ausgelöst wurde, was die schnellere Wirkstoff-Freisetzung bei pH 6 im Vergleich zu pH 7,4 erklärt.

5.1.6. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Bei der beabsichtigten Verwendung von Nanopartikeln als Wirkstoffträger ist die Zytotoxizität des Wirkstoffträgermaterials selbst zu bewerten und die zytotoxischen Wirkungen des ursprünglichen Wirkstoffes ATO mit denen der Nanopartikel-Formulierung MFU-4l-OAs(OH)₂ zu vergleichen.

Die Studien zur Arsen-Freisetzung ergaben, dass MFU-4l-OAs(OH)₂ nicht nur die gebundene Arsen-Spezies freisetzt, sondern durch die Zersetzung in einer aciden Mikroumgebung (pH 6) auch der Ligand H₂-BTDD freigesetzt wird. Daher wurden sowohl arsenfreie MOF-Nanopartikel MFU-4l als auch der Ligand H₂-BTDD hinsichtlich ihrer zytotoxischen Eigenschaften analysiert. Zu diesem Zweck wurden nicht-tumoröse Kontrollzelllinien und verschiedene ATRT-Zelllinien mit fünf verschiedenen Konzentrationen von MFU-4l und H₂-BTDD bis zu 72 h inkubiert (**Abbildung 5.8**). Die verabreichten Konzentrationen von MFU-4l und H₂-BTDD wurden im Hinblick auf die Menge dieser Moleküle berechnet, die in den arsenhaltigen Nanopartikeln vorhanden ist. Dies entspricht wiederum einem Konzentrationsbereich von 0,0132 - 132 µM ATO.

In den beiden nicht tumorösen Kontroll-Zelllinien (Fibroblasten und LLC-PK1) reduzierte MFU-4l die Zellviabilität. Im Falle der Fibroblasten nahm die Zellviabilität für die Konzentrationen von MFU-4l $\geq 0,8$ mg/L nach 24 h und 72 h (**Abbildung 5.8a**) ab, was einer ATO-Konzentration von 1,32 µM entsprechen würde. Im Falle von LLC-PK1 konnte dies schon für die Konzentrationen $\geq 0,08$ mg/L (erst nach 72 h, **Abbildung A22**) beobachtet werden, was einer ATO-Konzentration von 0,132 µM entsprechen würde.

In ATRT-Zelllinien (BT12, BT16, CHLA-02 und 311-FHTC) zeigte MFU-4l selbst nach 72 h in der höchsten Konzentration keine signifikante zytotoxische Wirkung (**Abbildung A22**). Eine zytotoxische Wirkung von MFU-4l auf normales Gewebe, die in der *in vitro* Studie mit nicht-tumorösen Zelllinien (Fibroblasten und LLC-PK1) getestet wurde, war zwar bei niedrigeren Dosierung im Bereich der IC₅₀-Werte sichtbar (**Tabelle 5.2**), führte jedoch zu einer maximalen Abnahme der Zellviabilität von < 25 % (Fibroblasten) bzw. < 35 % (LLC-PK1). Nur bei Konzentrationen von $\geq 3,75$ mg/L, was einer ATO-Konzentration von 13,2 µM entsprechen würde, zeigte H₂-BTDD eine signifikante Wirkung auf die Zellviabilität von Fibroblasten (**Abbildung 5.8b**) und BT16-Zellen (**Abbildung A23**), während bei BT12-Zellen kein zytotoxischer Effekt auftrat (**Abbildung A23**). Im Vergleich zu den IC₅₀-Werten von Tumor-Zelllinien nach 72 h (**Tabelle 5.2**) zeigte H₂-BTDD nur bei Konzentrationen, die

höher waren als zur Halbierung der Zellviabilität bei ATRT-Zelllinien erforderlich, einen bemerkenswerten zytotoxischen Effekt.

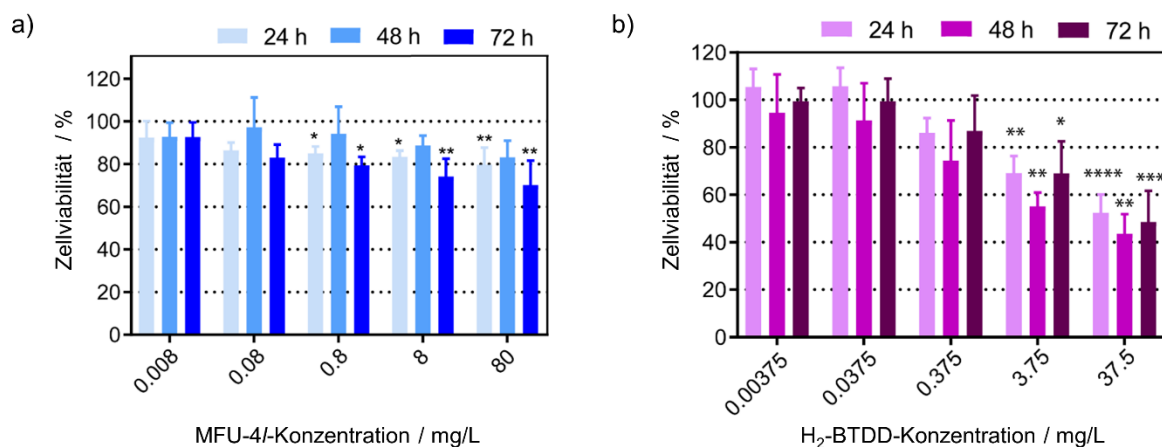


Abbildung 5.8: Zellviabilität von Fibroblasten nach 24 h, 48 h und 72 h Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von (a) MFU-4l und (b) H₂-BTDD. Die Daten sind als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt (n ≥ 3). (ANOVA one-way, * bedeutet p ≤ 0,05, ** p ≤ 0,01, **** p ≤ 0,0001).

Tabelle 5.2: Mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀) für die ATO- und MFU-4l-OAs(OH)₂-Behandlung von verschiedenen ATRT-Zelllinien nach 72 h.

ATRT Zelllinie	IC ₅₀ -Wert nach 72 h / µM	
	ATO	MFU-4l-OAs(OH) ₂
BT12	1,4	1,5
BT16	6,1	8,9
CHLA-02	0,9	2,5
311-FHTC	7,1	7,5

Im nächsten Schritt war es von Interesse, die zytotoxischen Wirkungen von ATO mit denen von MFU-4l-OAs(OH)₂ zu vergleichen. Dazu wurden ATRT-Zelllinien mit verschiedenen Konzentrationen von freiem Arsentrioxid und MFU-4l-OAs(OH)₂ für 72 h inkubiert und die Zellviabilität mittels MTT-Test beurteilt. Die Ergebnisse zeigten, dass beide die Zellviabilität von ATRT-Zellen *in vitro* reduzierten (**Abbildung 5.9**).

Der zytotoxische Effekt war sowohl von der Zelllinie als auch der Dosis abhängig, wobei die IC₅₀-Werte im Bereich von 0,9 bis 8,9 µM lagen (**Tabelle 5.2**). BT12 (**Abbildung 5.9a**) und CHLA-02 Zellen (**Abbildung 5.9c**) zeigten eine größere Empfindlichkeit gegenüber ATO und MFU-4l-OAs(OH)₂ als BT16 (**Abbildung 5.9b**) und 311-FHTC Zellen (**Abbildung**

5.9d). Bemerkenswert ist, dass die zytotoxische Wirkung von MFU-4/-OAs(OH)₂ gleich oder geringer war als die von freiem ATO, was darauf hindeutet, dass die Nanopartikel-Formulierung keine Zytotoxizität hinzufügte, sondern eher als neutrale oder leicht zytotoxizitätsdämpfendes Trägermaterial wirkte.

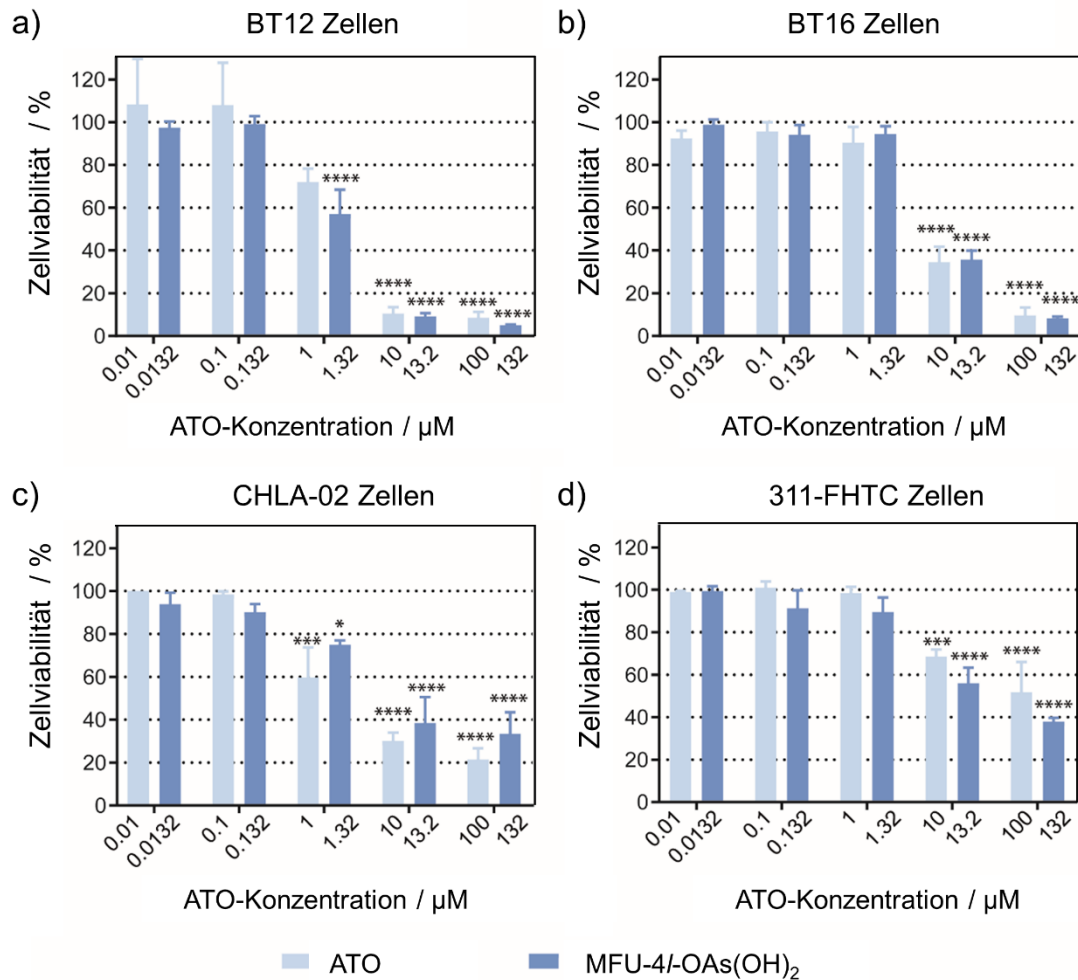


Abbildung 5.9: Zellviabilität verschiedener ATRT-Zelllinien nach 72 h Inkubation mit unterschiedlichen Konzentrationen von ATO und MFU-4/-OAs(OH)₂. Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt ($n \geq 3$). (ANOVA one-way, * bedeutet $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$, **** $p \leq 0,0001$).

5.2. Zn-MOF-74 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

Eine weitere Zn-basierte Metall-organische Gerüstverbindung, namens Zn-MOF-74, wurde im Anschluss auf ihre Eignung als Wirkstoff-Trägermaterial untersucht, da diese eine hohe Dichte an zugänglichen Metallzentren in ihrem Netzwerk aufweist. Durch diese Metallzentren könnte sowohl eine definierte Wirkstoff-Beladung mit einer hohen Beladungskapazität als auch eine kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung erzielt werden. Daher wurden in der Arbeitsgruppe von Dr. Hana Bunzen arsenhaltige Zn-MOF-74 Nanopartikel hergestellt und im Rahmen dieser Arbeit auf die resultierenden Sorptionseigenschaften und die Arsen-Freisetzungskinetik untersucht. Das folgende Kapitel wurde in Anlehnung an die bereits veröffentlichte Literaturstelle „Zn-MOF-74 as pH-Responsive Drug-Delivery System of Arsenic Trioxide“ verfasst, die im Journal *ChemNanoMat* erschienen ist.^[165]

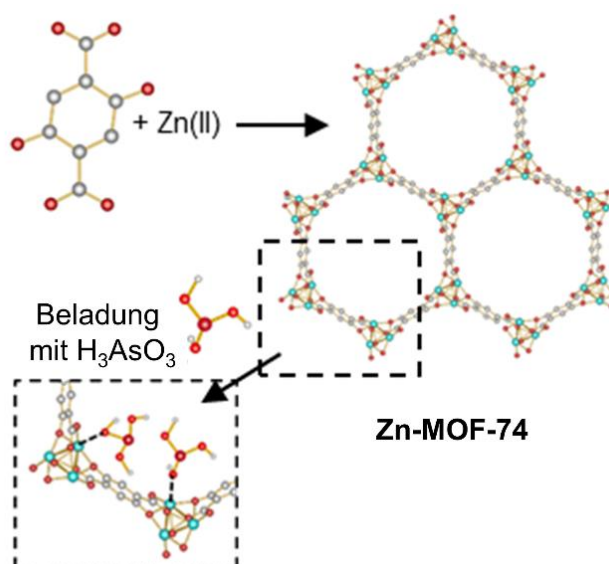


Abbildung 5.10: Zn-MOF-74 konnte postsynthetisch mit H_3AsO_3 beladen werden und stellt damit ein Modellbeispiel für ein MOF mit zugänglichen Metallzentren für eine kontrollierte Wirkstoff-Beladung und –Freisetzung dar.

5.2.1. Einleitung

Die im folgenden Kapitel beschriebene MOF-Struktur Zn-MOF-74 gehört zu der bekannten und ausführlichst untersuchten MOF-74/CPO-27-Reihe und setzt sich aus Zn(II) -Ionen und 2,5-Dihydroxybenzol-1,4-dicarboxylat-Liganden zusammen.^[76] Neben Zn-MOF-74 gibt es zahlreiche analoge Strukturen mit anderen zweiwertigen Metallkationen wie Mg(II) ,^[166] Mn(II) ,^[167] Fe(II) ,^[168] Co(II) ,^[77] Ni(II) ^[169] und Cu(II) .^[170] Diese haben sich als äußerst vielversprechende Materialien für die Bindung kleiner Moleküle wie H_2 , CO_2 , CO und NO ^[171] oder für die selektive Trennung von Gasen oder Kohlenwasserstoffen erwiesen.^[14,172] Das

ist darauf zurückzuführen, dass das Netzwerk des frisch synthetisierten Materials Lösungsmittel-Moleküle in seiner 3D-Wabenstruktur beinhaltet, die leicht durch eine Aktivierung mit erhöhter Temperatur und/oder Hochvakuum entfernt werden können – und dies ohne dass die Struktur dadurch beeinträchtigt wird (**Abbildung 5.11**). Somit weist die desolvatisierte MOF-Struktur eine hohe Dichte an frei verfügbaren Metallzentren auf, die für eine Gastbindung leicht zugänglich sind. Folglich haben sich MOFs mit zugänglichen Metallzentren als sehr nützliche Materialien für zahlreiche Anwendungen wie die Katalyse,^[173] aber auch als Drug Delivery System erwiesen.^[174] Insbesondere wenn eine Verabreichung von hochtoxischen Wirkstoffen wie Arsentrioxid beabsichtigt wird, ist eine sehr präzise und definierte Bindung zwischen Wirkstoff und Trägermaterial erstrebenswert, um eine kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung zu ermöglichen. Um herauszufinden, ob sich MOFs mit zugänglichen Metallzentren zur Bindung von toxischen arsenhaltigen Wirkstoffen eignen, wurde Zn-MOF-74 daher als Modellbeispiel auf seine chemische Stabilität sowie das Wirkstoff-Beladungs- und Freisetzungsverhalten untersucht.

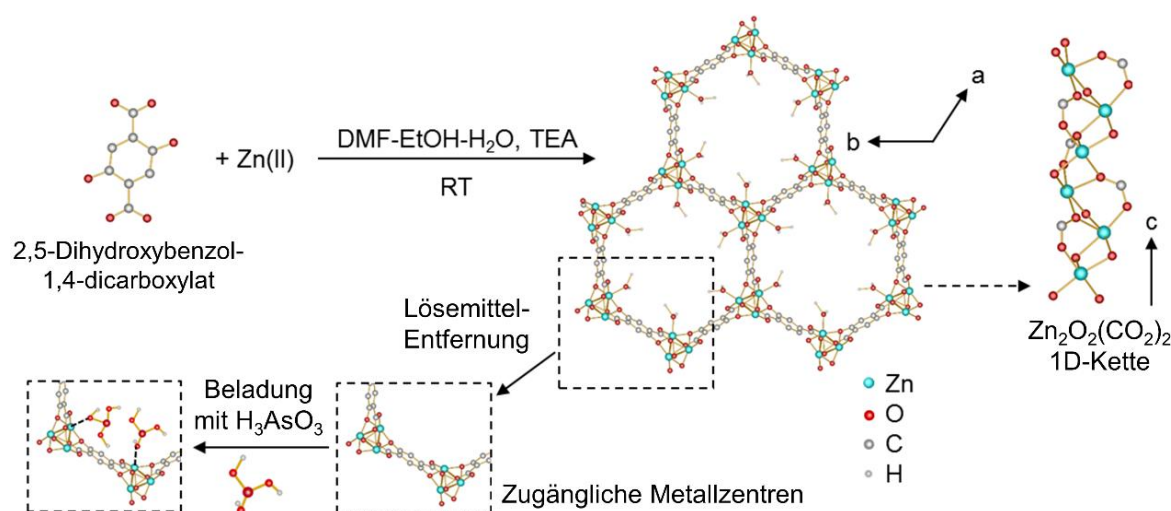


Abbildung 5.11: Schematische Darstellung der Synthese und Kristallstruktur von Zn-MOF-74 (CCDC: 265095) mit einer Darstellung wabenförmiger 1D-Porenkanäle und 1D-Ketten (entlang der *c*-Richtung), die von der Material-Aktivierung und Beladung mit H_3AsO_3 gefolgt wird.

Um die Anforderungen an ein Drug Delivery System zu erfüllen wurden die nachfolgenden Aspekte untersucht: Materialsynthese in Nanoskala, chemische Stabilität sowie Beladungs- und Freisetzungseigenschaften von arsenhaltigen Wirkstoffen. Dabei wurden die Materialien mittels XRPD, FT-IR, STEM, TGA, ICP-OES und Sorptionsanalysen charakterisiert.

5.2.2. Synthese der Zn-MOF-74 Nanopartikel

Wenn die Verwendung von Zn-MOF-74 als Trägermaterial von arsenhaltigen Wirkstoffen in der Krebstherapie beabsichtigt ist, dann ist eine intravenöse Anwendung erwünscht. Daher ist es wichtig, das Trägermaterial mit einer Partikelgröße in der Nanoskala – idealerweise unter 200 nm – herzustellen, um eine Anreicherung des Materials in Krebsgeweben über den so genannten erhöhten Permeabilitäts- und Retentionseffekt zu ermöglichen.^[175] Zudem weisen Nanopartikel verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften auf und sind daher als Drug Delivery System vorteilhaft.^[28]

Zn-MOF-74 Nanopartikel wurden in dieser Arbeit nach einem in der Literatur beschriebenen Verfahren synthetisiert.^[176] Dafür wurde $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,950 g, 3,19 mmol) mit 2,5-Dihydroxybenzol-1,4-dicarbonsäure (0,405 g, 2,04 mmol) in einer Mischung aus DMF, Ethanol und Wasser (25 mL : 3 mL : 3 mL) gemischt und die Mischung bei Raumtemperatur gerührt, bis sich beide Feststoffe gelöst hatten (etwa 20 min). Danach wurden 1,5 mL Triethylamin zu der Lösung hinzugefügt und die Mischung weitere 60 min gerührt. Der gebildete Feststoff wurde mit einer Zentrifuge isoliert, je zweimal mit DMF und Dichlormethan gewaschen und über Nacht an der Luft getrocknet (0,750 g). Um alle Lösungsmittel-Moleküle zu entfernen, die in den Poren eingeschlossen und an die Zinkkationen gebunden waren, wurde die Probe bei 320 °C unter Vakuum (0,1 mbar) für 16 h erhitzt.

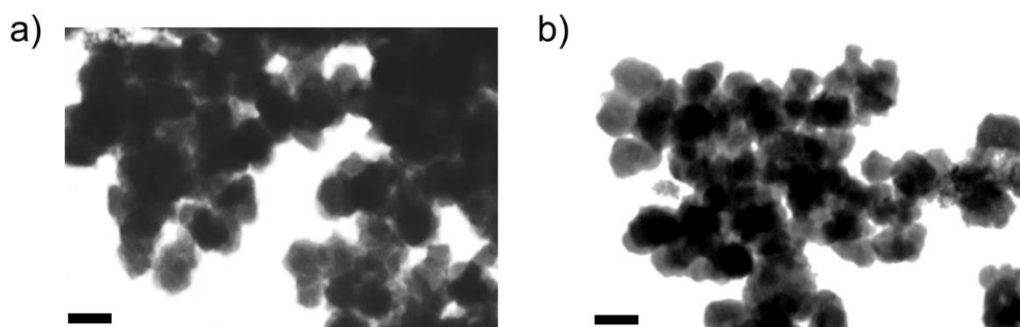


Abbildung 5.12: STEM-Aufnahmen von Zn-MOF-74 Nanopartikeln (a) vor und (b) nach der As(III)-Beladung; Maßstabsbalken: 100 nm.

Der Vergleich der Röntgenpulverdiffraktogramme der synthetisierten Proben mit einem simulierten Pulverdiffraktogramm (CCDC: 265095)^[76] bestätigt, dass es sich bei dem synthetisierten Material um eine kristalline Probe von Zn-MOF-74 handelte (**Abbildung 5.14b**). Die Reflexe der gemessenen Probe waren verbreitert, was auf eine Bildung von Kristallen in Nanogröße hindeutet. Um die Größe und Morphologie der Zn-MOF-74 Nanopartikel zu visualisieren, wurden STEM-Aufnahmen gemacht (**Abbildung 5.12**). Diese zeigten kugelförmige, etwa 100 nm große Nanopartikel, was gut mit den Daten aus der

Literatur für dieselben Synthesebedingungen übereinstimmte.^[176] Zusätzlich wurde eine Kristallitgröße der aktivierten Probe von bis zu 28,7 nm mit Hilfe der Scherrer-Gleichung berechnet. Für die Berechnung wurden die drei intensivsten Beugungsreflexe im Bereich von 5-20 ° verwendet.

Um die erfolgreiche Lösungsmittel-Entfernung der sowohl koordinierten als auch nicht koordinierten Molekülen aus den Poren zu verifizieren, wurden TGA-Kurven (**Abbildung B1**) und FT-IR-Spektren (**Abbildung 5.13**) des Materials vor und nach dem Aktivierungsprozess aufgezeichnet. Die thermogravimetrische Analyse ergab, dass der Massenverlust unter 200 °C, der den Lösungsmittel-Molekülen entspricht, nach der Probenaktivierung verschwand (**Abbildung B1**). Zusätzlich zeigten die FT-IR-Spektren, dass die charakteristische $\nu(\text{C=O})$ -Schwingungsbande von DMF bei 1654 cm^{-1} verschwand (**Abbildung 5.13**). Folglich bestätigten beide analytischen Methoden, dass die Lösungsmittel-Moleküle erfolgreich aus den Poren entfernt wurden und, dass die Zn(II)-Koordinationsstellen in Zn-MOF-74 somit für eine Gastbindung zugänglich gemacht wurden.

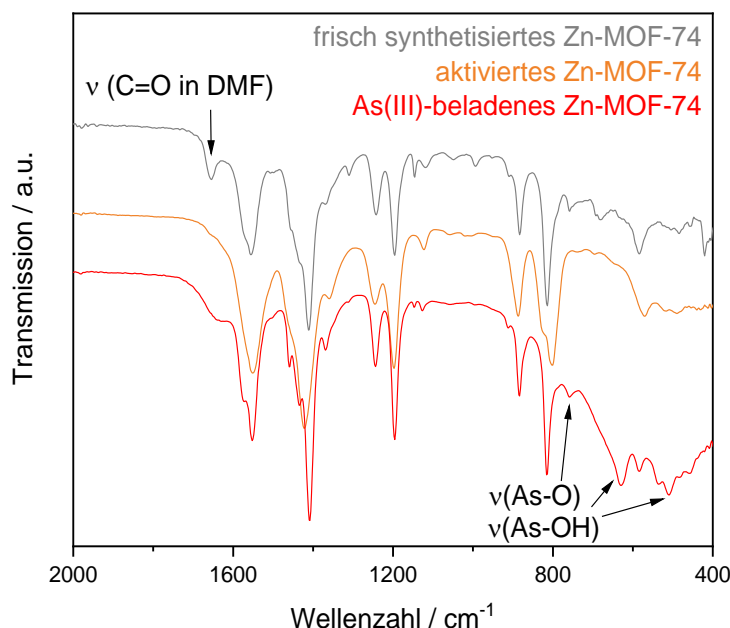


Abbildung 5.13: FT-IR-Spektren von Zn-MOF-74 Nanopartikeln: Frisch synthetisiert (grau), aktiviert (orange) und As(III)-beladen (rot).

5.2.3. Wirkstoff-Beladung

Um das MOF-Trägermaterial mit dem arsenhaltigen Wirkstoff zu beladen, wurde zunächst Natrium(meta)arsenit (NaAsO_2 , 1 g, 7,7 mmol) – als Ausgangsverbindung für ATO mit einer hohen Wasserlöslichkeit – in 1 L demineralisiertem Wasser gelöst. Im nächsten Schritt wurde der pH-Wert der wässrigen Natrium(meta)arsenit-Lösung mit 1 M Salzsäure

eingestellt, denn in Abhängigkeit des pH-Wertes entstehen verschiedene anionische As(III)-Spezies – H_2AsO_3^- ($\text{pK}_{\text{A}1} = 9.22$), HAsO_3^{2-} ($\text{pK}_{\text{A}2} = 12.10$) und AsO_3^{3-} ($\text{pK}_{\text{A}3} = 13.40$).^[53] Damit die optimalen Beladungsbedingungen festgestellt werden konnten, wurden verschiedene pH-Werte (3, 6, 7,4 und 10) und Zeiten getestet. Um die zugänglichen Metallzentren im MOF zu adressieren, stellte sich dabei heraus, dass es äußerst wichtig war den pH-Wert unter 9,22 zu halten, sodass der Großteil der As(III)-Spezies in Form des neutralen Moleküls H_3AsO_3 vorliegt. Bei einem zu niedrigen pH-Wert, hier pH 3, verlor die Probe jedoch teilweise ihre Kristallinität (**Abbildung B2**). Eine maximale Wirkstoff-Beladung unter Beibehaltung der Kristallinität der Nanopartikel wurde bei pH 6 erreicht. Dieses Ergebnis stimmt gut mit einer Veröffentlichung überein, in der Zn-MOF-74 Nanopartikel für die Reinigung von As(III)-verunreinigtem Wasser eingesetzt wurden.^[177] Für die Beladung wurden also 200 mg Zn-MOF-74 Nanopartikel in 200 mL einer Arsen-Lösung mit pH 6 dispergiert und ohne Rühren für 90 min bei Raumtemperatur aufbewahrt. Danach wurde das Feststoffmaterial mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert, dreimal gut mit demineralisiertem Wasser gewaschen und über Nacht bei 65 °C getrocknet.

Nach der Beladung zeigten sich zwei zusätzliche Reflexe bei 12.07 und 24.20° im Röntgenpulverdiffraktogramme (**Abbildung 5.14b**), die eine erfolgreiche Koordination des H_3AsO_3 -Wirkstoffes an den zugänglichen Metallzentren innerhalb der Poren bestätigten (**Abbildung 5.14a**). Ähnliches Verhalten wurde für Zn-MOF-74 berichtet, bei dem Wassermoleküle an die Metallstellen koordiniert wurden.^[56]

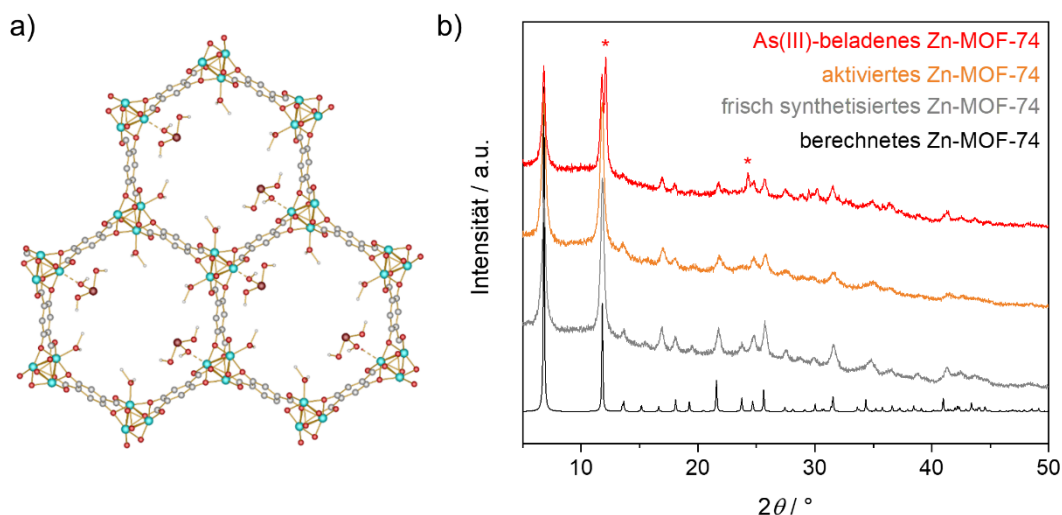


Abbildung 5.14: (a) Schematische Darstellung einer potentiellen Kristallstruktur von Zn-MOF-74 nach der Arsen-Beladung und (b) Röntgenpulverdiffraktogramme von Zn-MOF-74: Berechnet (schwarz), frisch synthetisiert (grau), aktiviert (orange) und nach der Arsen-Beladung (rot). Neue Reflexe sind mit einem Stern (*) gekennzeichnet.

Darüber hinaus konnte das Vorhandensein von H_3AsO_3 im Netzwerk mittels FT-IR-Spektroskopie nachgewiesen werden. Der Literatur zufolge, zeigt adsorbiertes H_3AsO_3 charakteristische Schwingungsfrequenzen im Bereich zwischen 800 und 500 cm^{-1} .^[178] Tatsächlich traten im FT-IR-Spektrum (**Abbildung 5.13**) des arsenhaltigen Zn-MOF-74 im Vergleich zur ursprünglich aktivierten Probe drei zusätzliche Banden bei 759, 630 und 510 cm^{-1} auf. Diese können antisymmetrischen und symmetrischen Schwingungsmoden von As-O und As-OH zugeordnet werden.^[158,179]

Die Menge des arsenhaltigen Wirkstoffs wurde mittels ICP-OES quantifiziert und ergab ein Zn : As-Verhältnis von 1 : 0,29 (Mittelwert aus drei Messungen). Dies entspricht einer Menge von 153 mg As_2O_3 in 1 g des arsenhaltigen MOF-Materials, also 116 mg elementarem As pro gramm. Diese Arsen-Menge übertrifft die meisten bisher in der Literatur erwähnten ATO-Trägermaterialien (**Tabelle 2.1**). Im Hinblick auf die theoretische maximale Beladungskapazität, die einem As : Zn-Verhältnis von 1 : 1 entspricht, konnten jedoch nur 29 % der zugänglichen Metallzentren in Zn-MOF-74 mit H_3AsO_3 beladen werden. Diese geringere Beladung ist auf eine Vervollständigung der Koordination an den zugänglichen Zn-Metallzentren durch Wasser-Liganden zurückzuführen. Diese Annahme wurde auch durch die thermogravimetrische Analyse bestätigt (**Abbildung B1**), da ein Massenverlust von -3,3 % zwischen 25 und 250 °C festgestellt werden konnte, der auf die Entfernung von Wasser-Molekülen zurückzuführen ist.

Die hohe Wirkstoff-Beladung spiegelte sich auch in den Ergebnissen der Sorptionsanalyse wider (**Abbildung B4**). Es wurde eine BET-Oberfläche von nur 452 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ gemessen, was den berichteten Wert von 1187 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ für das aktivierte Zn-MOF-74 Netzwerk deutlich unterschreitet.^[89] Zu guter Letzt wurde das arsenhaltige Material mittels STEM untersucht. Die STEM-Aufnahmen zeigten, dass keine Veränderungen der Partikelgröße oder Morphologie durch den Beladungsprozess auftraten (**Abbildung 5.12**).

5.2.4. Materialstabilität und Wirkstoff-Freisetzung

Wenn ein MOF als Drug Delivery System für Wirkstoffe in der Krebsbehandlung verwendet werden soll, muss es nicht nur eine hohe Menge des Wirkstoffes aufnehmen, sondern diesen auch wieder freisetzen können – und zwar vorzugsweise auf eine kontrollierte Weise. Optimalerweise sollte die Wirkstoff-Freisetzung vollständig im pH-Bereich der Tumorzellen (ca. pH 6) erfolgen, während sie im pH-Bereich von Blut und gesunden Zellen (ca. pH 7,4) so niedrig wie möglich sein sollte.^[31] Daher wurden sowohl die Materialstabilität als auch die Wirkstoff-Freisetzung bei diesen beiden pH-Werten untersucht.

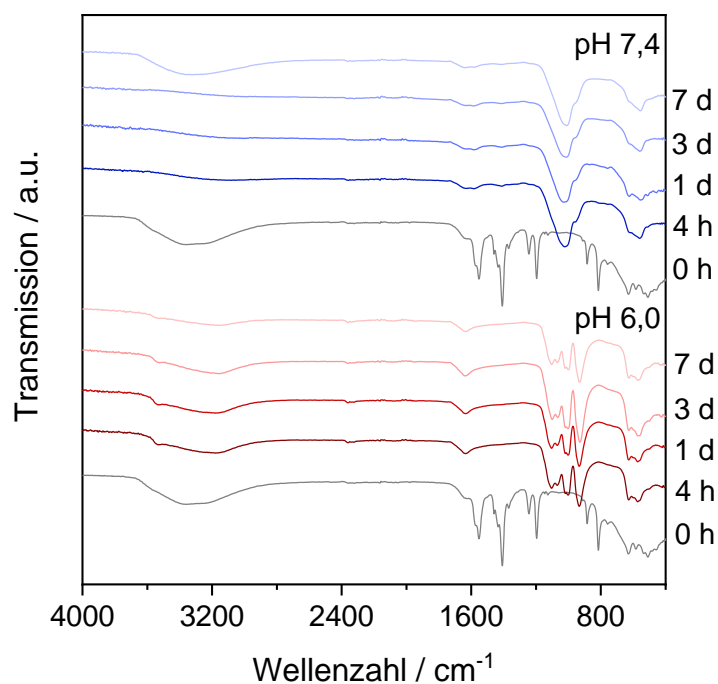


Abbildung 5.15: FT-IR-Spektren von Stabilitätsstudien von arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikeln, die in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei pH 6 (rot) und pH 7,4 (blau) durchgeführt wurden.

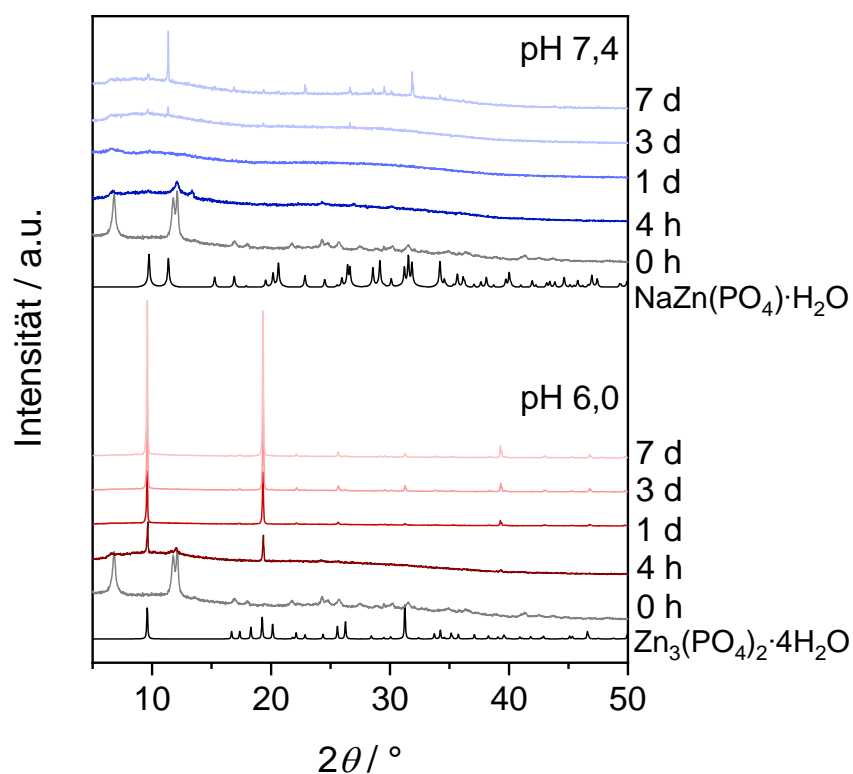


Abbildung 5.16: Röntgenpulverdiffraktogramme von Stabilitätsstudien der arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikel, die in einer phosphatgepufferten

Kochsalzlösung bei pH 6 (rot) und pH 7,4 (blau) durchgeführt wurden, und ihr Vergleich mit $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (CSD: 18145) und $\text{NaZn}(\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ (CCDC: 81368).

Die Materialstabilität wurde untersucht, indem 10 mg der arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikel in 10 mL einer 0,01 M phosphatgepufferten Kochsalzlösung mit zwei verschiedenen pH-Werten – 6 und 7,4 – dispergiert wurden. Das Material wurde 4, 24, 72 und 168 Stunden lang bei 37 °C in der Lösung gehalten. Nach der jeweiligen Zeit wurde der Feststoff mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert, gut mit Wasser gewaschen und mittels FT-IR-Spektroskopie (**Abbildung 5.15**) und XRPD-Analyse (**Abbildung 5.16**) untersucht.

Beide Analysen haben gezeigt, dass Zn-MOF-74 bei beiden getesteten pH-Werten ziemlich instabil war.

Bei pH 7,4 war das MOF während der ersten 4 Stunden zumindest teilweise stabil, während sich das MOF bei pH 6 recht schnell zersetzte. Nach 4 Stunden konnte es mit keiner der beiden Methoden nachgewiesen werden. Die Netzwerk-Zersetzung führte bei beiden pH-Werten zu einer Bildung von Zinkphosphat, das durch die Zinkkationen, die aus dem Netzwerk freigesetzt wurden, und die Phosphatanionen aus der phosphatgepufferten Kochsalzlösung gebildet wurde (**Abbildung 5.15** und **Abbildung 5.16**). Bei einem pH-Wert von 7,4 konnte in den FT-IR-Spektren die Schwingungsbanden entsprechend der Phosphatgruppe $(\text{PO}_4)^{3-}$ bei 1026, 950 und 553 cm^{-1} nachgewiesen werden. Durch die XRPD-Analyse konnte die Bildung von $\text{NaZn}(\text{PO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$ verifiziert werden. Bei pH 6 wurde auch ein Phosphatsalz des Zinks gebildet, was durch FT-IR-Spektroskopie durch Nachweis der Schwingungsbanden bei 1102, 1071, 1003, 944 und 559 cm^{-1} und durch die XRPD-Analyse durch Beobachtung der Reflexe von $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ bestätigt wurde.^[180]

Auch um die Wirkstoff-Freisetzung zu bewerten, wurden 10 mg der arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikel in 10 mL einer 0,01 M phosphatgepufferten Kochsalzlösung mit zwei verschiedenen pH-Werten – 6 und 7,4 – dispergiert und in der Lösung bei 37 °C gehalten. Die Menge der in die Lösung freigesetzten Arsen- und Zinkionen wurde nach 1, 4, 6, 24, 48, 72 und 168 h mittels ICP-OES bestimmt (**Abbildung 5.17**), indem 1 mL der Lösung vorsichtig zur Analyse entnommen und durch 1 mL frische phosphatgepufferte Kochsalzlösung ersetzt wurde. Die Freisetzungsstudien wurden jeweils in Triplikaten durchgeführt, um eine Standardabweichung bestimmen zu können.

Die Arsen-Freisetzung in einer Mikroumgebung, die Tumorgewebe simuliert, d.h. bei pH 6, war nach 24 h mit etwa $94,3 \pm 3,9$ % der ursprünglich beladenen Menge fast vollständig abgeschlossen. Bei pH 7,4 war diese dagegen signifikant langsamer. Nach 24 Stunden waren nur etwa $51,4 \pm 1,0$ % des Arsens freigesetzt, und selbst nach 7 Tagen war die Arsen-Freisetzung nicht komplett. Nach 7 Tagen enthielt das verbliebene Material noch

etwa $33,5 \pm 0,1$ mg Arsen in 1 g, was 28,93 % der ursprünglich beladenen Menge entspricht. Bei einem pH-Wert von 6 betrug die Restmenge an Arsen im Material nach 7 Tagen dagegen nur noch $1,1 \pm 0,1$ mg/g, was weniger als 0,95 % des Anfangswertes entsprach. Darüber hinaus wurde nicht nur die Menge an Arsen, sondern auch die Menge an Zink, die an die Lösung abgegeben wurde, mittels ICP-OES bestimmt. Während des gesamten Zeitraums der Wirkstoff-Freisetzungsstudien lag die nachgewiesene Zink-Menge in der Lösung jedoch unter 1 %, was darauf hindeutet, dass das freigesetzte Zink vollständig für die Bildung von Phosphatsalzen verbraucht wurde.

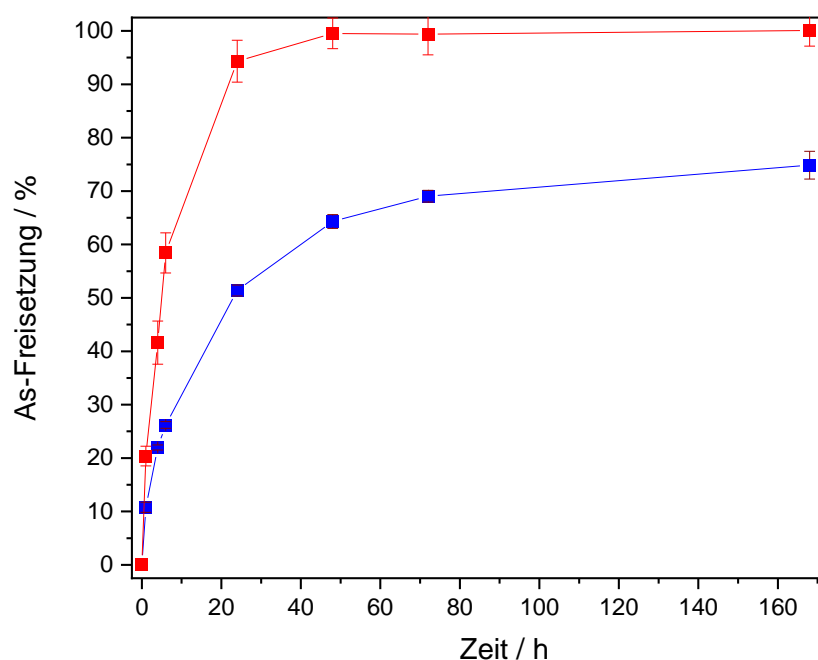


Abbildung 5.17: Arsen-Freisetzung aus den arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikeln bei pH 6 (rot) und 7,4 (blau) bei 37 °C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung; bestimmt mittels ICP-OES.

Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit den Materialstabilitätsstudien, die auch gezeigt haben, dass Zn-MOF-74 bei pH 7,4 stabiler war als bei pH 6 und, dass die Material-Zersetzung bei beiden pH-Werten zu einer Freisetzung von Zinkionen führt, die wiederum die Bildung von Zinkphosphaten zur Folge hat (**Abbildung 5.15** und **Abbildung 5.16**).

Um die Material-Zersetzung sichtbar zu machen, wurden STEM-Aufnahmen des Materials nach 24 h bei pH 6 und 7,4 aufgenommen (**Abbildung 5.18**). Die Bilder zeigten, dass die Nanopartikel tatsächlich nach 24 Stunden bei pH 6 zersetzt waren, während diese bei pH 7,4 noch nachweisbar waren, obwohl die XRPD-Analyse zeigte, dass diese nicht vollständig kristallin waren (**Abbildung 5.16**). Die Ergebnisse der Studien zur Arsen-Freisetzung zeigten, dass Zn-MOF-74 unter leicht sauren Bedingungen Arsen schneller freisetzt und

daher als Wirkstoffträger für eine pH-getriggerte Wirkstoff-Freisetzung in Tumorgeweben verwendet werden könnte.

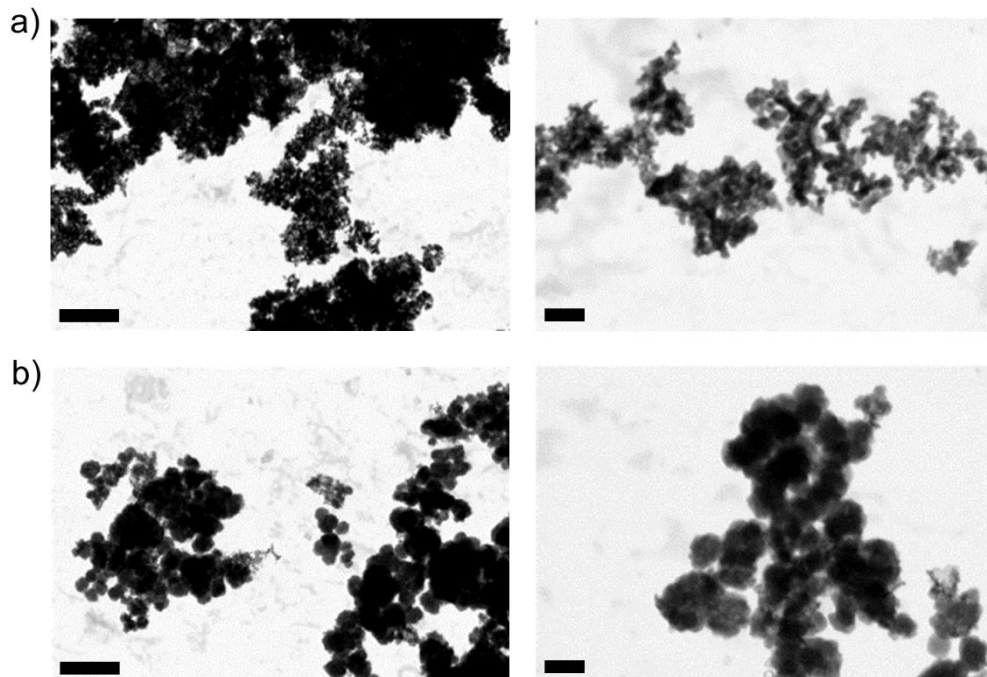


Abbildung 5.18: STEM-Aufnahmen der arsenhaltigen Zn-MOF-74 Nanopartikel nach 24 h bei 37 °C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung mit pH (a) 6 und (b) 7,4 ; Maßstabsbalken: 500 nm (links), 100 nm (rechts).

5.3. ZIF-8 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

Die bereits vorgestellten Zn-basierten Metall-organischen Gerüstverbindungen haben sich zwar durch eine äußerst hohe Wirkstoff-Beladungskapazität als vielversprechende Drug Delivery Systeme erwiesen, doch deren gezieltes Wirkstoff-Freisetzungsverhalten durch den pH-Wert ist nicht optimal. Daher wird im nachfolgenden Kapitel über ZIF-8 (Zeolitic Imidazolate Framework-8) Nanopartikel berichtet,^[85] die einen zielführenderen Kandidaten für die pH-gesteuerte Freisetzung von arsenhaltigen Wirkstoffen darstellen. Das Kapitel orientiert sich dabei an der Publikation „Zeolitic Imidazolate Framework-8 as pH-Sensitive Nanocarrier for "Arsenic Trioxide" Drug Delivery“, die in *Chemistry –A European Journal* erschienen ist.^[181]

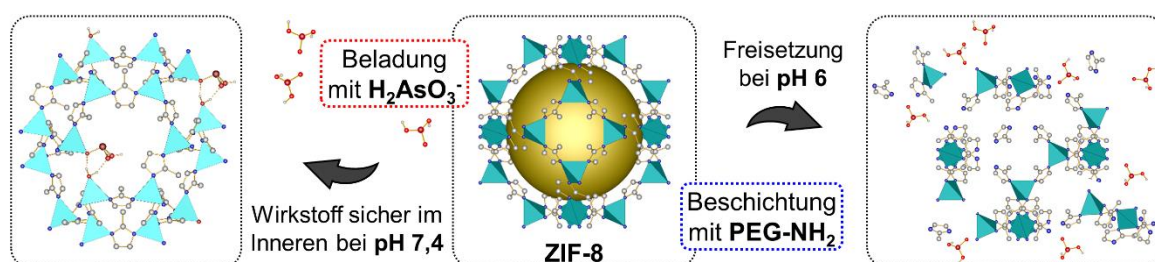


Abbildung 5.19: ZIF-8 Nanopartikel wurden postsynthetisch mit H_2AsO_3^- beladen sowie mit PEG-NH₂ beschichtet und zeigten dann bei pH 7,4 nur wenig Wirkstoff-Freisetzung, während diese bei pH 6 vollständig stattfindet.

5.3.1. Einleitung

Nachdem gezeigt wurde, dass es möglich ist MOFs postsynthetisch mit arsenhaltigen Wirkstoffen zu beladen und diese als Drug Delivery System zu verwenden,^[152] wurde das neutrale MOF-Netzwerk ZIF-8 untersucht. Dieses wurde gewählt, da es neben einer hohen theoretischen Wirkstoff-Beladung auch eine pH-Wert gesteuerte Wirkstoff-Freisetzung ermöglichen könnte.^[90] Eine zielgerichtete Freisetzung ist insbesondere im Falle von hochtoxischen Wirkstoffen wie Arsentrioxid wichtig, denn dadurch könnte der Wirkstoff selektiv nur an der gewünschten Stelle im Körper abgegeben werden, ohne dass dabei das restliche Gewebe beeinträchtigt wird.^[182] In der Krebstherapie bietet sich die Änderung des pH-Werts als Auslöser für die Freisetzung an,^[183] da die extrazelluläre Mikroumgebung von Krebszellen aufgrund ihrer hohen Stoffwechselrate tendenziell acider ist als die des übrigen Gewebes.^[31] Daher empfiehlt sich die Untersuchung von ZIF-8 als Trägermaterial, denn dieses weist eine geeignete pH-Stabilität auf: Es ist stabil bei neutralen pH-Werten, wie in gesundem Gewebe, während es bei leicht aciden pH-Werten instabil ist, sprich in Tumorgewebe. Folglich wurde versucht ZIF-8 Nanopartikel mit arsenhaltigen Wirkstoffen zu beladen und zur Verbesserung der Materialeigenschaften mit Polyethylenglykol zu beschichten.

Im Folgenden wurden die hergestellten Wirkstoff-Trägermaterialien mittels FT-IR- und Raman-Spektroskopie, EDX-Spektroskopie, ICP-OES, CHN-Elementaranalyse, Argon-Sorptionsmessungen und XRPD untersucht. Zudem wurde ihre Wirkstoff-Freisetzungskinetik bei verschiedenen pH-Werten sowie deren Zytotoxizität *in vitro* analysiert.

5.3.2. Synthese der ZIF-8 Nanopartikel

Bei der Herstellung eines MOFs als Drug Delivery System müssen mehrere Aspekte berücksichtigt werden. Dazu gehören sowohl die Verwendung von nicht- oder nur schwach-toxischen Komponenten und Reaktanten als auch Reaktionsbedingungen, die die Bildung von nanoskaligen Partikeln, deren Optimum bei oder unter 100 nm liegt, begünstigen.^[30] Daher wurden ZIF-8 $[\text{Zn}(\text{C}_4\text{H}_5\text{N}_2)_2]_n$ Nanopartikel entsprechend einer in der Literatur beschriebenen Synthese in Wasser und bei Raumtemperatur hergestellt.^[184] Zinknitrat Hexahydrat (1,17 g, 3,9 mmol) und 2-Methylimidazol (22,7 g, 0,28 mol) wurden in 8 mL bzw. 80 mL demineralisiertem Wasser gelöst. Die beiden Lösungen wurden gemischt und nach einer optimalen Reaktionszeit von 5 Minuten wurde das Produkt mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert (5000 rpm, 30 min). Anschließend wurden die Nanopartikel zweimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen und bei 130 °C und Umgebungsdruck für 2 h getrocknet. Dadurch konnten 450 mg ZIF-8 Nanopartikel mit einer Partikelgröße von 68 ± 15 nm erhalten werden. Dies wurde durch die Auswertung von 100 Nanopartikeln mittels Transmissionselektronenmikroskopie bestimmt (TEM, **Abbildung 5.20** und **Abbildung C1**).

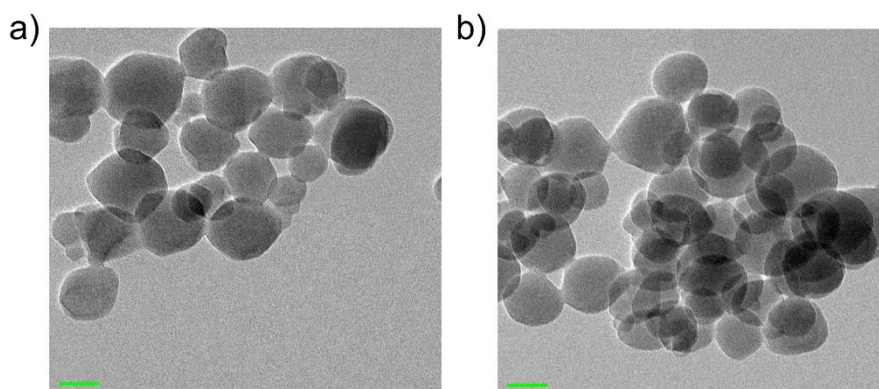


Abbildung 5.20: TEM-Aufnahme von ZIF-8 Nanopartikeln (a) vor und (b) nach der Wirkstoff-Beladung, Maßstabsbalken: 50 nm.

5.3.3. Wirkstoff-Beladung

Damit ATO auf sichere und kontrollierte Weise vom Trägermaterial freigesetzt werden kann, sollte es über eine koordinative Bindung an das Trägermaterial gebunden werden. ZIF-8 ist

jedoch ein neutrales Netzwerk $[\text{Zn}(\text{C}_4\text{N}_2\text{H}_5)_2]$ und enthält somit keine frei verfügbaren Metallbindungsstellen. Daher wurde versucht ATO in Form eines H_2AsO_3^- Anions über einen postsynthetischen Ligandenaustausch an das ZIF-8-Netzwerk zu binden.

Als Ausgangsverbindung für ATO wurde Natrium(meta)arsenit (NaAsO_2 , 1 g, 7,7 mmol) verwendet, da es eine sehr hohe Löslichkeit in Wasser aufweist. Der pH-Wert der wässrigen Lösung (7,7 mM) wurde mit 1 M HCl auf pH 7 eingestellt, um $\text{As}(\text{OH})_3$ zu erzeugen. Anschließend wurden 500 mg ZIF-8 Nanopartikel für 18 Stunden bei Raumtemperatur in 250 mL der Lösung dispergiert. Danach wurde der Reaktionsmischung zur Partikelabschüttung Ethanol zugesetzt. Abschließend wurden die arsenhaltigen Nanopartikel $[\text{As}@\text{ZIF-8}]$ durch Zentrifugation isoliert (5000 rpm, 30 min), zweimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen, um alle nicht gebundenen As(III)-Spezies aus den Poren von ZIF-8 zu entfernen, und unter Umgebungsdruck bei 130 °C getrocknet. Zur quantitativen und qualitativen Analyse der As(III)-Spezies im Netzwerk von ZIF-8 wurden die präparierten $\text{As}@\text{ZIF-8}$ Nanopartikel mit verschiedenen Methoden wie FT-IR und Raman, EDX, ICP-OES, CHN-Elementaranalyse, Argon-Sorptionsmessungen und XRPD angewendet.

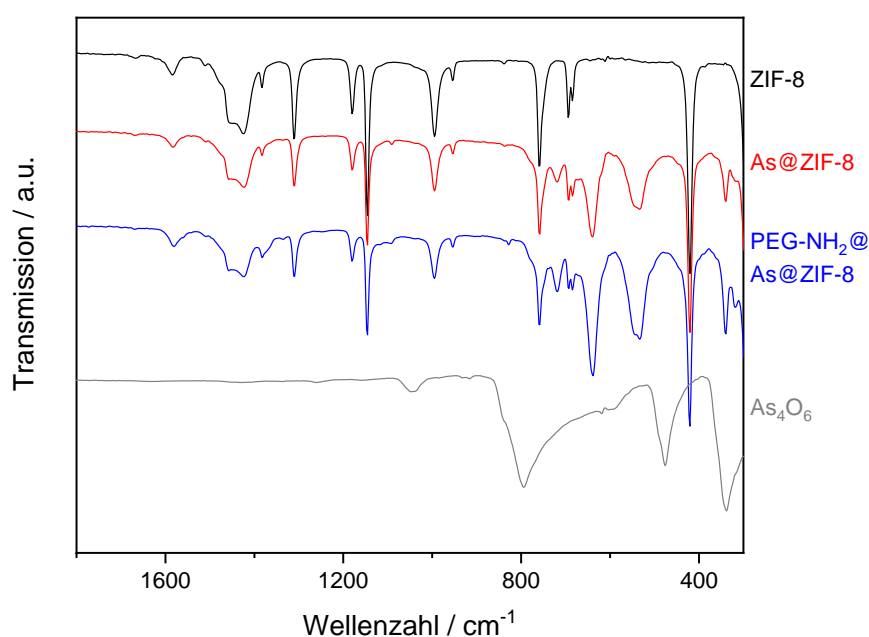


Abbildung 5.21: FT-IR-Spektren von ZIF-8 (schwarz), $\text{As}@\text{ZIF-8}$ (rot), $\text{PEG-NH}_2@\text{As}@\text{ZIF-8}$ (blau) und As_4O_6 (grau) im Bereich von 1800-300 cm^{-1} .

Die Hypothese des Ligandenaustausches wurde durch die Ergebnisse der FT-IR- und Raman-Spektroskopie, der CHN-Elementaranalyse sowie der quantenmechanischen Modellierung untermauert. In den FT-IR-Spektren traten neue Banden bei 340, 540, 640, 720 und 1090 cm^{-1} auf (**Abbildung 5.22**, **Abbildung C2** und **Abbildung C3**), die den symmetrischen und asymmetrischen Streckschwingungen $\nu(\text{As}(\text{OH})_2)$ und $\nu(\text{As-O})$

entsprechen und mit den Daten aus der Literatur übereinstimmen.^[179] Darüber hinaus stützten auch die Ergebnisse der Raman-Spektroskopie diese Schlussfolgerung. Neue Banden erschienen bei 320, 370, 600 und bei 790 cm^{-1} und konnten der As-OH-Deformations-, sowie der symmetrischen und antisymmetrischen Streckungsschwingung, der symmetrischen und antisymmetrischen Streckung und den As-O-Streckschwingungen zugeordnet werden (**Abbildung C4**).^[158] Diese Befunde schlossen die Möglichkeit aus, dass $\text{As}(\text{OH})_3$ einfach in den Poren eingelagert und dann zu As_4O_6 dehydriert wurde (**Abbildung 5.21**).^[179,185]

Der erwartete Verlust des Imidazolat-Liganden nach der Beladung mit Arsenit wurde durch die CHN-Elementaranalyse bestätigt (**Tabelle C1**). Die unveränderten ZIF-8 Nanopartikel ergaben eine Summenformel von $\text{Zn}(\text{C}_4\text{N}_2\text{H}_5)_{1,95}$, was 0,05 fehlenden Liganden pro Zinkkation entspricht und als geringfügige Fehler im Netzwerk betrachtet werden kann. Nach der Beladung mit Arsenit erhöht sich die Anzahl der fehlenden Liganden pro Zinkatom jedoch deutlich auf 0,2 (Summenformel: $\text{Zn}(\text{C}_4\text{N}_2\text{H}_5)_{1,8}$). Dies deutet darauf hin, dass einige der Ligandenmoleküle des Netzwerkes gegen Arsenit-Anionen ausgetauscht wurden. Auf der Grundlage dieser Hypothese wurde ein Strukturmodell für $\text{As}@\text{ZIF-8}$ simuliert (**Abbildung C8**). Tatsächlich stimmte das dazugehörige modellierte IR-Spektrum (**Abbildung C9** und **Tabelle C2**) gut mit den gemessenen IR-Spektren überein und untermauert somit die Annahme eines teilweisen Ligandenaustausches durch Arsenit. Um die Arsen-Menge zu quantifizieren wurden zwei analytische Methoden, die EDX-Spektroskopie und die ICP-OES-Analyse, verwendet (**Tabelle 5.3**). Während die EDX-Spektroskopie in erster Linie Informationen über die elementare Zusammensetzung der Oberflächenniveaus liefert, wurden bei der ICP-OES-Analyse die Partikel vor der Messung in einer wässrigen Lösung von HNO_3 zersetzt, sodass die elementare Zusammensetzung des gesamten Partikelmaterials erhalten wurde. Die EDX-Spektroskopie ergab ein Verhältnis Zn : As von 1 : 0,33 in einem Mittelwert aus drei Messungen, das mit den bei der ICP-OES-Analyse ermittelten Werten von 1 : 0,28, gemittelt aus drei Messungen, gut übereinstimmte. Diese Ergebnisse wiesen eindeutig darauf hin, dass Arsenit im kompletten Probenmaterial und nicht nur an der Oberfläche geladen war, wie es insbesondere bei nicht-poröse Materialien oft der Fall ist. Die geladene Menge an Arsen entspricht etwa 74 mg As pro 1 g Trägermaterial und entspricht 98 mg As_2O_3 / 1 g. Dies stellt eine hohe Beladungskapazität für ZIF-8 dar – besonders im Hinblick auf die Tatsache, dass das Netzwerk an sich nicht funktionalisiert ist und keine zugänglichen Koordinationsstellen aufweist. Die Wirkstoff-Beladung spiegelt sich auch deutlich in den Ergebnissen der Argon-Sorptionsanalyse wieder, da die spezifische Oberfläche von 1500 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ auf nur 1150 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ abnahm (**Tabelle 5.3, Abbildung C5**).

Darüber hinaus beeinflusste die Beladung mit Arsenit die Symmetrie der Kristallstruktur, wie aus den Röntgenpulverdiffraktogrammen hervorgeht (**Abbildung 5.22b**). Die temperaturabhängige Röntgenpulverdiffraktometrie und die thermogravimetrische Analyse zeigen, dass As@ZIF-8 bis zu 450 °C stabil ist, was im Vergleich zu den ZIF-8-Nanopartikeln etwas niedriger ist (**Abbildung C6** und **Abbildung C7**). Dies stimmt mit den Ergebnissen überein, dass einige der Liganden des Netzwerkes durch Arsenit-Anionen ersetzt wurden.

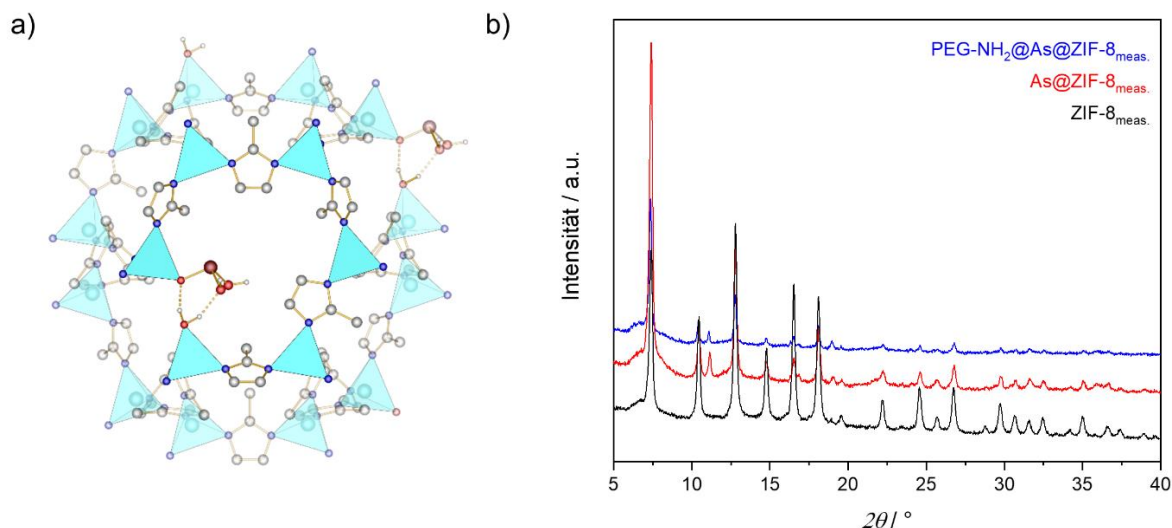


Abbildung 5.22: (a) Modellierter Kristallstruktur von A@ZIF-8 (Berechnungsdetails siehe **Kapitel C.2**) und (b) Röntgenpulverdiffraktogramme von ZIF-8 (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau).

Tabelle 5.3: Ergebnisse der EDX-Spektroskopie, ICP-OES und Argon-Sorptionsanalyse von ZIF-8, As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8.

Analyse	ZIF-8	As@ZIF-8	PEG-NH ₂ @As@ZIF-8
EDX, $n(\text{Zn}) : n(\text{As})$	1 : 0	1 : 0,33	1 : 0,39
ICP-OES, $n(\text{Zn}) : n(\text{As})$	1 : 0	1 : 0,28	1 : 0,30
Gemessene spez. Oberfläche (Ar, 77 K, m ² g ⁻¹)	1500	1150	490

5.3.4. Beschichtung der Nanopartikel

Um die Biokompatibilität und Stabilität des Trägermaterials zu erhöhen, wurde die Beschichtung von ZIF-8 Nanopartikeln mit Polymeren genau untersucht (**Kapitel 5.4**). Dabei wurden vor allem Polyethylenglykol (PEG) basierte Polymere verwendet, da diese häufig für medizinische Zwecke eingesetzt werden.^[186] Ein amino-funktionalisiertes Derivat von Polyethylenglykol, nämlich Alpha-Methoxy-Omega-Amino-Polyethylenglykol mit einer

durchschnittlichen Molekularmasse von 5516 Da, PEG-NH₂, hat sich als besonders geeignet herausgestellt. Im Gegensatz zu nichtfunktionalisiertem PEG können koordinierte Wechselwirkungen zwischen den Aminoendgruppen der Polymere und den Zinkzentren stattfinden, sodass das Polymer an die Oberfläche gebunden ist und nicht in die Poren des Netzwerkes eindringt.^[187] 250 mg der As@ZIF-8 Nanopartikel wurden also in 25 mL einer 1,6 mM wässrigen PEG-NH₂-Lösung dispergiert und 2 h bei Raumtemperatur gelagert. Anschließend wurde die Probe [PEG-NH₂@As@ZIF-8] mit Hilfe einer Zentrifuge isoliert und dreimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen und unter Umgebungsdruck bei 130 °C getrocknet. Die erfolgreiche Beschichtung wurde durch FT-IR-Spektroskopie bestätigt (**Abbildung 5.21** und **Abbildung C3**): Neue Banden bei 2870, 1250, 1100 und 840 cm⁻¹ entsprechen C-H-Deformationsschwingungen, sowie O-H und C-O-H Streckschwingungen. Darüber hinaus wurde durch thermogravimetrische Analyse bestätigt, dass 5,1 Gew.-% PEG-NH₂-Beschichtung vorhanden waren (**Abbildung C7**). Die ICP-OES-Analyse der beschichteten PEG-NH₂@As@ZIF-8 Proben ergab, dass der Arsengehalt durch die Beschichtung nicht beeinträchtigt wurde (**Tabelle 5.3**).

5.3.5. Wirkstoff-Freisetzung

Um einen grundlegenden Einblick in die Arsen-Freisetzungs kinetik von As@ZIF-8 und PEG-NH₂-beschichtetem As@ZIF-8 unter humanphysiologischen Bedingungen zu ermöglichen, wurde ein vereinfachter Aufbau verwendet. Dabei wurde eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung mit zwei verschiedenen pH-Werten (pH 6 und pH 7,4) bei 37 °C verwendet, um die Mikroumgebung von Tumor- und gesundem Gewebe nachzuahmen.^[31] 10 mg As@ZIF-8 oder PEG-NH₂@As@ZIF-8 wurden in 10 mL des 0,01 M Phosphatpuffer bei pH 7,4 oder bei pH 6 dispergiert und nach einer bestimmten Zeitspanne (nach 4, 6, 24, 48, 72 oder 168 h) wurde 1 mL der Lösung zur Analyse entnommen und durch 1 mL einer frischen phosphatgepufferten Kochsalzlösung ersetzt. Die Menge an Arsen und Zink in der entnommenen 1 mL Probe wurde durch ICP-OES-Analyse bestimmt. Die Studien zur Arsenfreisetzung wurden in Triplikaten durchgeführt, sodass die Daten als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt werden können (**Abbildung 5.23** und **Tabelle C3**). Darüber hinaus wurden die verbliebenen Nanopartikel in jedem Zeitschritt durch XRPD-, IR-, TGA- und EDX-Analysen analysiert.

Bei pH 7,4, d.h. einer normalen Gewebeumgebung, wurde nur 15,5 % Arsen nach 24 h und ein Maximum von 19,2 % nach 168 h freigesetzt. Die Feststoffe wurden mittels XRPD-, FT-IR- und TG-Analysen analysiert. Die Ergebnisse zeigten keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu den Daten von As@ZIF-8 vor den Freisetzungsstudien – mit Ausnahme einiger neuer Banden, die in den FT-IR-Spektren beobachtet wurden und dem aus der gepufferten Lösung absorbierten Phosphat zugeordnet werden konnten (**Abbildung C10-**

Abbildung C15). Außerdem konnte in den Lösungen kein Zink nachgewiesen werden, was bestätigt, dass sich das Wirkstoff-Trägermaterial ZIF-8 bei einem pH-Wert von 7,4 nicht zersetzt. Interessanterweise wurde bei pH 6, d.h. einem tumorösen Gewebeumfeld, ein anderes Verhalten im Vergleich zu pH 7,4 festgestellt. Bei pH 6 waren bereits 29,4 % des Arsens nach 24 h freigesetzt und nach 168 h konnte die gesamte Menge des ursprünglich enthaltenen Arsens in der Lösung nachgewiesen werden. Die Steigung der Arsen-Freisetzung bei pH 6 (**Abbildung 5.23**) deutet zudem darauf hin, dass die Freisetzung in weniger als 100 h abgeschlossen war.

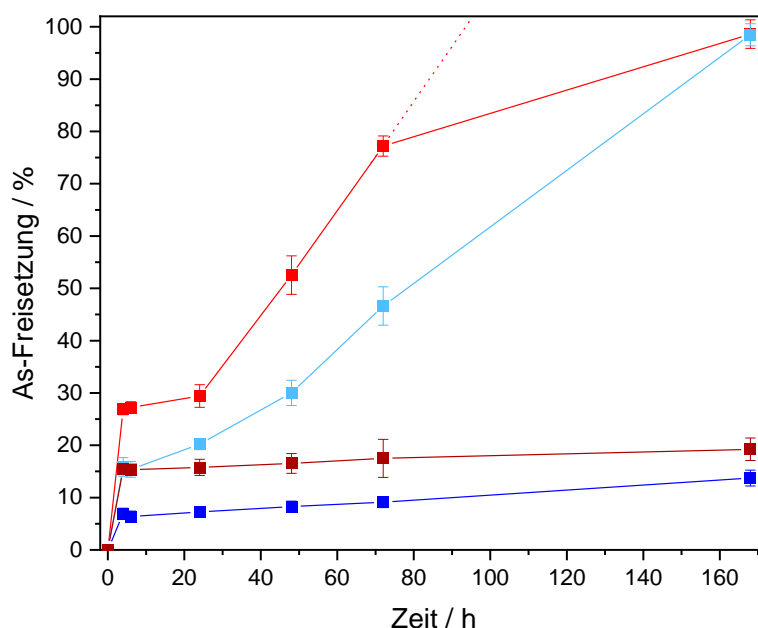


Abbildung 5.23: Arsen-Freisetzung aus As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 bei pH 6 (rot bzw. hellblau) und pH 7,4 (dunkelrot bzw. dunkelblau) in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei 37 °C; bestimmt mittels ICP-OES.

Diese schnelle Arsen-Freisetzung bei pH 6 (im Vergleich zur Freisetzung bei pH 7,4) wurde durch die Netzwerk-Zersetzung von ZIF-8 verursacht, die von einer fortschreitenden Bildung von Na₆Zn₆(PO₄)₆·8H₂O aus den freigesetzten Zinkkationen und Phosphatanionen des Puffers begleitet wurde. Die Netzwerk-Zersetzung und die Bildung von Na₆Zn₆(PO₄)₆·8H₂O wurde durch die XRPD-, FT-IR- und TG-Analysen verifiziert (**Abbildung C16-Abbildung C21**).

Die PEG-NH₂-beschichteten Proben zeigten bei pH 7,4 und pH 6 die gleichen Freisetzungstrends wie die entsprechenden unbeschichteten Proben, wobei die Wirkstoff-Freisetzung durch die Oberflächenmodifikation nur geringfügig verlangsamt wurde. Bei pH 7,4 sank die Arsen-Freisetzung nach 24 h von 15,5 % auf 7,2 %, und die maximale Freisetzung betrug 13,7 % statt 19,2 % nach 168 h. Auch bei pH 6 ging die Arsen-

Freisetzung in den ersten 24 h von 29,4 % auf 20,2 % zurück und war nach 168 h abgeschlossen. Dieses verlangsamte Freisetzungsverhalten von PEG-NH₂-beschichteten MOF-Nanopartikeln wurde bereits berichtet und wird der verlangsamten Partikel-Zersetzung und Wirkstoff-Freisetzung aufgrund einer langsameren Diffusion der phosphatgepufferten Kochsalzlösung durch die vorhandene PEG-Schicht zugeordnet.^[188]

Somit erwies sich die Oberflächenmodifikation der Nanopartikel als ein nützliches Mittel zur Verlangsamung der Wirkstoff-Freisetzung, insbesondere in den ersten Stunden. Die Studien zur Arsen-Freisetzung zeigten eindeutig, dass Arsen bei leicht sauren Bedingungen viel schneller freigesetzt werden konnte als bei pH 7,4. Dies deutet darauf hin, dass das Material, wenn es als Wirkstoff-Trägermaterial verwendet wird, den Wirkstoff unter den Bedingungen von normalem Gewebe in den Poren halten und so das Gewebe vor den negativen Auswirkungen des Wirkstoffes schützen würde, während es in der saureren Mikroumgebung von Krebsgewebe rasch freigesetzt werden könnte.

5.3.6. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Um die zytotoxische Wirkung von As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 zu analysieren, ist eine Bewertung des mutmaßlich zytotoxischen Effekts, der durch die verschiedenen Bestandteile der Nanopartikel, also ZIF-8, 2-Methylimidazol (der Ligand von ZIF-8) und den Originalwirkstoff ATO ausgelöst wird, unerlässlich. Zu diesem Zweck wurden Fibroblasten als nicht-tumoröse Zellen und zwei ATRT-Zelllinien - BT12 und BT16 gewählt. Von Letzteren ist bekannt, dass sie positiv auf die ATO-Behandlung ansprechen. Diese wurden mit den Nanopartikeln und Nanopartikelkomponenten für 24 h und 72 h inkubiert.^[152] Die Menge der verabreichten Substanzen wurde im Hinblick auf die festgelegte As- oder Zn-Menge berechnet. Zunächst wurde die Zusammensetzung der Nanopartikel von As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 mittels ICP-OES bestimmt (**Tabelle 5.3**). Dann wurde die Menge der beiden Proben As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 für die Zytotoxizitätsstudien in Bezug auf eine feste Arsen-Konzentration berechnet, die der As₂O₃-Konzentration von 0,0001 bis 100 µM entsprach. Entsprechend dieser Mengen wurde die äquivalente Menge von ZIF-8 und dem organischen Ligand berechnet (Einzelheiten siehe **Tabelle C4**). Nach der jeweiligen Inkubationszeit wurde die Zellviabilität mit einem MTT-Test gemessen.^[144]

Die an Fibroblasten durchgeführte Analyse zeigte, dass der organische Ligand die Zellviabilität nach der Inkubation nur geringfügig vermindert (**Abbildung 5.24a**) und daher sein zytotoxischer Effekt vernachlässigbar ist. Im nächsten Schritt wurde die Zellviabilität von Fibroblasten analysiert, die mit dem Trägermaterial selbst behandelt wurden. Die Ergebnisse von ZIF-8 zeigten keinen signifikanten zytotoxischen Effekt nach 24 h bei Konzentrationen von weniger als 174 mg/L (**Abbildung 5.24b**). Nach 72 Stunden nahm

jedoch die Zellviabilität bei Konzentrationen gleich oder höher als 17,4 mg/L ab, was auf einen zytotoxischen Effekt von ZIF-8 bei derart hohen Konzentrationen hindeutet. Zusätzlich wurde die Zellviabilität von Fibroblasten nach 24 h und 72 h analysiert, die mit arsenhaltigen Nanopartikeln As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 behandelt wurden (**Abbildung 5.25a** und **Abbildung C22**). Interessanterweise war nach 72 h die zytotoxische Wirkung der beiden arsenhaltigen Nanopartikel ähnlich oder geringer als die von ZIF-8 (**Abbildung 5.25a**), was darauf hinweist, dass der über einen MOF-Trägermaterial verteilte Wirkstoff keine zusätzliche Zytotoxizität verursacht. Die Zytotoxizität von freiem Arsentrioxid gegen Fibroblasten wurde ebenfalls getestet (**Abbildung 5.24c**) und entsprach einem IC₅₀-Wert von 27,5 µM nach 72 h.

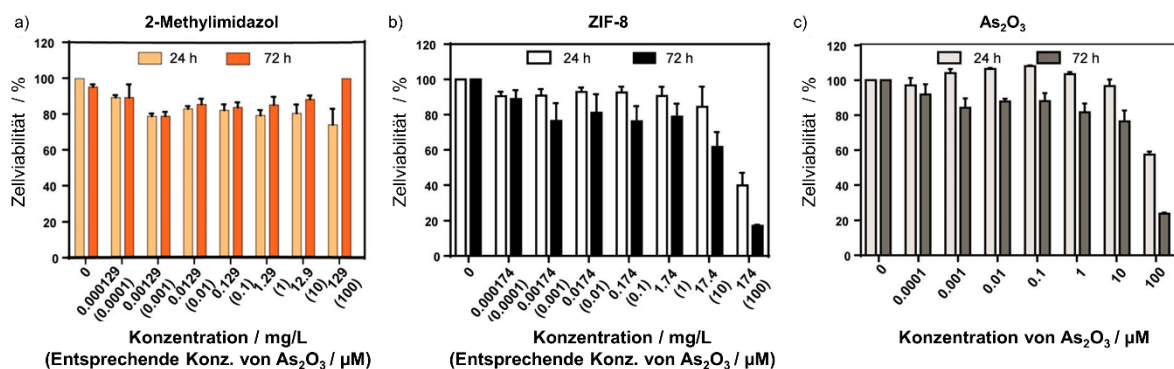


Abbildung 5.24: Zellviabilität von Fibroblasten nach 24 h und 72 h Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen von (a) 2-Methylimidazol, (b) ZIF-8 und (c) As₂O₃. Die in mgL⁻¹ angegebene Konzentration entspricht der Menge an ZIF-8 (oder dessen Ligand, der zu dessen Herstellung benötigt wird), die mit As₂O₃ im Konzentrationsbereich von 0 - 100 µM beladen werden könnte (Details siehe **Tabelle C4**). Die Daten werden als Mittelwert ± S.E.M. angegeben (n ≥ 3).

Um die Reaktion der ATRT-Zelllinien BT12 und BT16 auf das arsenfreie und arsenhaltige Trägermaterial zu untersuchen, wurden die gleichen Experimente mit ZIF-8 und den beiden arsenhaltigen Nanopartikeln durchgeführt. Bereits zu einem frühen Zeitpunkt trat bei einer niedrigen Wirkstoff-Konzentration in BT12 und etwas später in BT16 eine deutliche zytotoxische Wirkung der arsenhaltigen Nanopartikel im Vergleich zum arsenfreien ZIF-8 Trägermaterial auf (**Abbildung C22**). Nach 72 h nahm die Zellviabilität in beiden Zelllinien bei Konzentrationen von mehr als 1 µM dramatisch ab (**Abbildung 5.25b** und **c**). Dies deutet darauf hin, dass die spezifische Wirkung des arsenhaltigen Trägermaterials mindestens 5-mal höher ist als die Wirkung von ZIF-8 allein (**Tabelle 5.4**).

Tabelle 5.4: Mittlere inhibitorische Konzentration (IC_{50} -Werte; angegeben als entsprechende Konzentration von As_2O_3 ; Details siehe **Tabelle C4**) für arsenhaltige MOFs und ZIF-8-Behandlung verschiedener ATRT-Zelllinien, nach 72 h.

ATRT Zelllinie	IC_{50} -Wert nach 72 h / μM		
	ZIF-8	As@ZIF-8	PEG-NH ₂ @As@ZIF-8
BT12	12,5	2,8	2,4
BT16	12,8	1,7	2,1

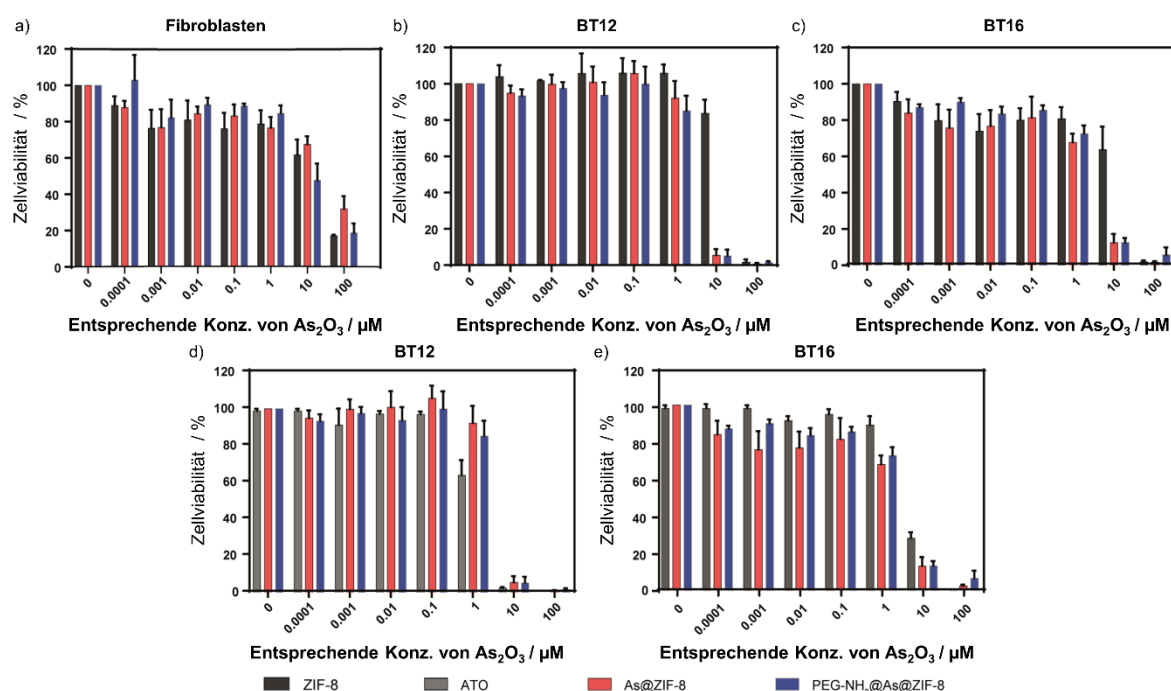


Abbildung 5.25: Zellviabilität von (a) Fibroblasten, (b und d) BT12- und (c und e) BT16-Zellen nach 72 h Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen von ZIF-8 (schwarz), ATO (grau), As@ZIF-8 (rot) oder PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau). Die angegebene Konzentration entspricht der Konzentration von As_2O_3 (0 - 100 μM), die effektiv beladen wurde oder theoretisch beladen werden könnte (Details siehe **Tabelle C4**). Die Daten werden als Mittelwert \pm S.E.M. angegeben ($n \geq 3$).

Im Anschluss an diese Tests sollte beurteilt werden, ob die spezifische zytotoxische Wirkung des im MOF enthaltenen Arsen-Wirkstoffes höher ist als eine durch freies ATO verursachte Wirkung. Daher wurde die durch die beiden arsenhaltigen Nanopartikel (As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8) und ATO hervorgerufene Zytotoxizität an BT12- und BT16-Zelllinien bei 24 h (**Abbildung C23**) und 72 h (**Abbildung 5.25d** und **e**) verglichen. Insgesamt lässt sich sagen, dass die zytotoxische Wirkung von freiem ATO und

Arsen, das in MOFs enthalten ist, vergleichbar ist. Im Fall von BT12 (**Abbildung 5.25d**) zeigte ATO eine höhere zytotoxische Wirkung bei 1 μM und eine vergleichbare Wirkung bis zu 10 μM . Im Gegensatz dazu zeigte ATO im Falle von BT16-Zellen (**Abbildung 5.25e**) bei jeder analysierten Konzentration eine geringere zytotoxische Wirkung als die arsenhaltigen Nanopartikel.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass beide Nanopartikel, As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8, bei niedrigen Konzentrationen in rhabdoiden Tumorzelllinien eine spezifische Zytotoxizität auslösen. Die niedrigen therapeutischen Dosen würden eine mögliche Toxizität durch ZIF-8 in nicht-tumorösen Zellen, wie Fibroblasten, jedoch bei *in vivo* Applikation vermeiden.

funktionalisierten sowie nichtfunktionalisierten Polymeren analysiert, die häufig für medizinische Zwecke verwendet werden: Polyethylenglykol (PEG, $M = 6000$ Da), Alpha-Methoxy-Omega-Carbonsäure-Polyethylenglykol (PEG-COOH, $M = 5000$ Da), Alpha-Methoxy-Omega-Amino-Polyethylenglykol (PEG-NH₂, $M = 5516$ Da), Poloxamer 188 ($M = 8595$ Da) und Polysorbat 80 ($M = 1310$ Da) (**Abbildung 5.26**).^[186]

Die FT-IR-Spektroskopie hat sich dabei als ausgezeichnete Methode für die qualitative Verifizierung einer erfolgreichen Polymerbeschichtung herausgestellt, während sich thermogravimetrische Analysen optimal für quantitative Bestimmung der Menge des Polymers eignen. Im Folgenden sind die wichtigsten Erkenntnisse der Studien zur Oberflächenmodifikation von MOF Nanopartikeln zusammengefasst.

5.4.2. Beschichtung von MFU-4l und ZIF-8 Nanopartikeln

Für beide MOF Nanopartikel wurden möglichst milde Beschichtungsbedingungen entwickelt, um sicherzustellen, dass das MOF-Netzwerk sowie die Wirkstoff-Beladung nicht beeinträchtigt wird. Daher wurden jeweils 10 mg der getrockneten MFU-4l bzw. ZIF-8 Nanopartikel für eine genau definierte Zeit von 30 bzw. 120 min bei Raumtemperatur in einem Milliliter frisch hergestellter Polymer-Lösung (0,8 mM) aufbewahrt. Anschließend wurden die Nanopartikel durch Zentrifugation isoliert und mehrere Male gut gewaschen, um möglichst alle überschüssigen Polymere aus den Poren zu entfernen. Danach wurden die isolierten MOF Nanopartikel unter Umgebungsdruck und bei Raumtemperatur getrocknet. Im Anschluss wurden diese stets mittels FT-IR-Spektroskopie auf zusätzliche Banden und mittels TGA auf einen zusätzlichen Masseverlust durch das jeweilige Polymer untersucht.

Die Oberflächenmodifikation von **MFU-4l** Nanopartikeln wurde stets in methanolischen Polymer-Lösungen durchgeführt, da Methanol ein unschädliches Lösungsmittel für das MFU-4l-Netzwerk darstellt. Die FT-IR-Spektroskopie konnte die erfolgreiche Beschichtung für alle Polymere bestätigen (**Abbildung 5.27**). Mittels TGA wurde in einem nächsten Schritt die genaue Menge des jeweiligen Polymers bestimmt (**Abbildung D1**). Hierbei wird deutlich, dass für alle Polymere – außer Polysorbat 80 – eine recht hohe Beschichtung von etwa 30 Gew.-% erreicht wurde (**Tabelle 5.5**). Ein derart hoher Anteil an Polymer ist ein Hinweis darauf, dass vorwiegend nichtkovalente Wechselwirkungen auftreten und, dass die Polymere zum Teil in den Poren von MFU-4l eingeschlossen sind. Dieser Befund lässt sich unter Berücksichtigung der Tatsache, dass das MFU-4l-Netzwerk Poren mit 12 Å und 18,6 Å aufweist, sehr gut erklären. Im Fall von Polysorbat 80 wird der geringere Polymer-Anteil von nur 15,7 Gew.-% vermutlich nicht durch eine schlechtere Beschichtung, sondern durch eine signifikant niedrigere molare Masse des Polymers verursacht.

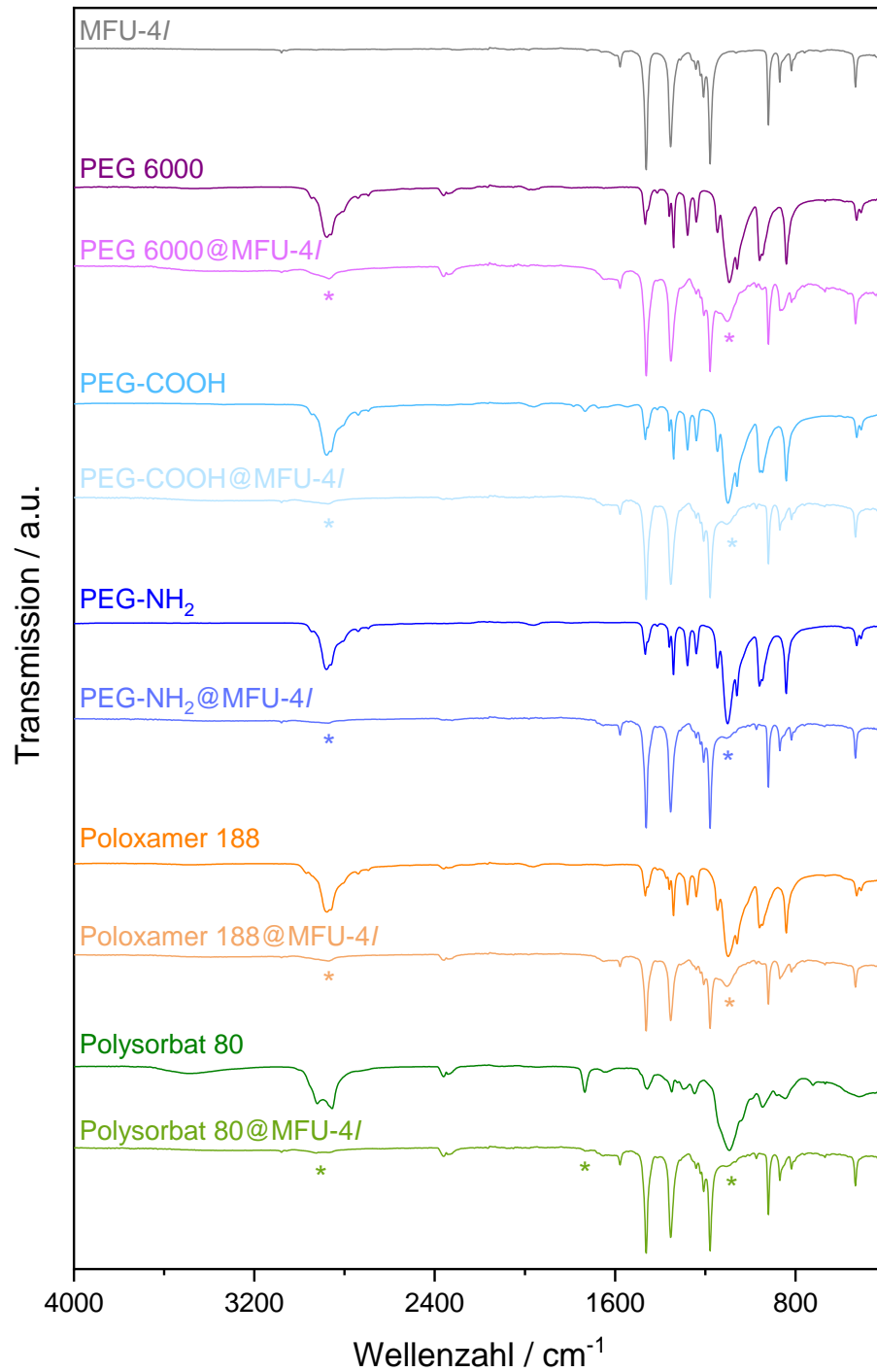


Abbildung 5.27: Vergleich der FT-IR-Spektren von MFU-4l (grau) mit den verschiedenen Polymeren und Polymer@MFU-4l: PEG 6000 (lila), PEG-COOH (hellblau), PEG-NH₂ (dunkelblau), Poloxamer 188 (orange) und Polysorbat 80 (grün) im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹; * markiert zusätzliche Banden durch das Polymer.

Tabelle 5.5: Ergebnisse der Beschichtung von MFU-4l und ZIF-8 in methanolischen bzw. wässrigen Lösungen mit den Polymeren PEG 6000, PEG-COOH, PEG-NH₂, Poloxamer 188 und Polysorbat 80.

Polymer	MFU-4l in MeOH Gew.-%	ZIF-8 in MeOH Gew.-%	ZIF-8 in H ₂ O Gew.-%
PEG 6000	29,9	1,9	27,6
PEG-COOH	30,5	–	–
PEG-NH ₂	30,3	3,7	11,6
Poloxamer 188	31,6	–	28,2
Polysorbat 80	15,7	–	15,5

Die direkte Übertragung der Beladungsbedingungen von MFU-4l auf die **ZIF-8** Nanopartikel war allerdings nicht erfolgreich. Am Beispiel der Polymere PEG 6000 und PEG-NH₂ hat sich gezeigt, dass die ZIF-8 Nanopartikel in einer methanolischen Polymer-Lösung kaum beschichtet werden konnten (**Tabelle 5.5**, **Abbildung D2** und **Abbildung D4**).

Nach einem Wechsel des Lösungsmittels von Methanol zu Wasser war es jedoch durchaus möglich gute Beschichtungsergebnisse mit den verschiedenen Polymeren zu erzielen, was durch zusätzliche Banden in den FT-IR-Spektren ersichtlich wird (**Abbildung 5.28** und **Abbildung D3**). Aus der Übersicht in **Tabelle 5.5** wird ersichtlich, dass für die ZIF-8 Nanopartikel in wässrigen Polymer-Lösungen fast exakt dieselben Werte für die einzelnen Polymere erhalten wurden wie für die MFU-4l Nanopartikel. Folglich liegen auch für ZIF-8, das mit 11,6 Å kleinere Poren hat, vor allem nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen dem ZIF-8-Netzwerk und den Polymeren vor. Lediglich bei der Beschichtung mit PEG-NH₂ ergab sich ein deutlich geringerer Wert von nur 11,6 Gew.-%. Im Gegensatz zu den anderen Polymeren können in diesem Fall kovalente Wechselwirkungen zwischen den Aminoendgruppen des Polymers PEG-NH₂ und den Zinkzentren des ZIF-8-Netzwerk stattfinden, sodass das Polymer tatsächlich an die Oberfläche gebunden ist und nicht in die Poren des Netzwerkes eindringt.^[187]

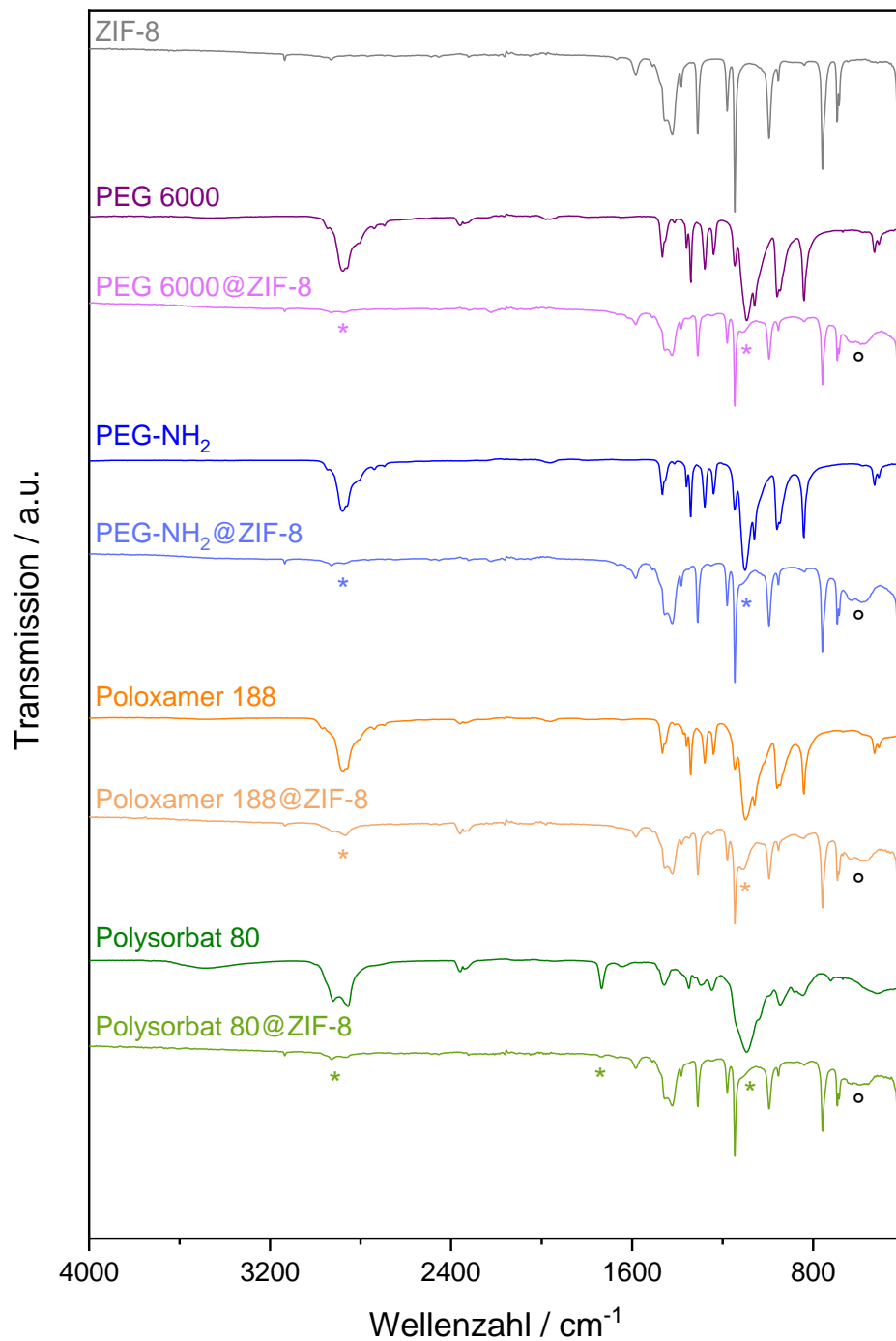


Abbildung 5.28: Vergleich der FT-IR-Spektren von ZIF-8 (grau) mit den verschiedenen Polymeren und Polymer@ZIF-8: PEG 6000 (lila), PEG-NH₂ (dunkelblau), Poloxamer 188 (orange) und Polysorbat 80 (grün) im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹; ° markiert Fe₃O₄-Nanopartikel, die in einem minimalen Anteil vorlagen; * markiert zusätzliche Banden durch das Polymer.

5.5. Fe₃O₄ Nanopartikel

5.5.1. Einleitung

Da in **Kapitel 5.1** bis **5.3** gezeigt werden konnte, dass sich MOF-Nanopartikel hervorragend als Trägermaterial für arsenhaltige Wirkstoffe eignen, sollten diese in einem nächsten Schritt mit Nanopartikeln mit diagnostischen Eigenschaften kombiniert werden. Um dies zu schaffen, wurden Fe₃O₄-Nanopartikel, oder auch Nanocluster, als Diagnostikum ausgewählt. Diese weisen eine gute Biokompatibilität, eine geringe Toxizität und superparamagnetisches Verhalten auf und sind somit ideal im Bereich biomedizinischer Anwendungen einsetzbar.^[24] Zudem hat sich gezeigt, dass sich eine Kombination mit MOFs – beispielsweise in Form einer Beschichtung – ideal eignen könnte, um die Wirkstoff-Beladungskapazität der Fe₃O₄-Nanocluster zu erhöhen sowie einen sicheren Wirkstoff-Transport und eine kontrollierte Wirkstoff-Freisetzung zu ermöglichen.

Folglich mussten zunächst die optimalen Fe₃O₄-Nanocluster für die Herstellung von Fe₃O₄-MOF Kern-Schale-Nanopartikeln synthetisiert werden. Dabei sollten drei wichtige Aspekte berücksichtigt werden: Erstens müssen die Fe₃O₄-Nanocluster im richtigen Größenregime, das unter 100 nm und idealerweise sogar unter 50 nm liegt, synthetisiert werden, damit eine intravenöse Verabreichung möglich ist. Zweitens sollten die Fe₃O₄-Nanocluster superparamagnetische Eigenschaften haben, sodass sich diese zur verbesserten Bildgebung in der Magnetresonanztomographie (MRT) eignen. Und drittens muss die Oberfläche dieser Fe₃O₄-Nanocluster so modifiziert werden, dass die Bildung von Konglomeraten der Fe₃O₄-Nanopartikel verhindert wird und/oder das MOF-Wachstum auf deren Oberfläche gefördert wird.

Bei einer entsprechenden Literaturrecherche konnten etwa 50 verschiedene Fe₃O₄-Synthesen gefunden werden, die diese Anforderungen teilweise erfüllen. Tatsächlich unterschreiten jedoch nur sehr wenige davon eine Gesamtpartikelgröße von 100 nm. Folglich wurde anhand der verfügbaren Literatur eine Synthese kleinerer Fe₃O₄-Nanoclustern entwickelt. Hierbei galt es allerdings zahlreiche Synthese-Parameter wie das Lösemittelgemisch, die Oberflächenbeschichtung, die verwendeten Eisen-Salze, die vorhandene Menge an Wasser während der Reaktion, die Reaktionszeit sowie die verwendeten Konzentrationen der Edukte zu untersuchen und unzählige Möglichkeiten wie diese unabhängig voneinander optimiert werden konnten.

Bei der Synthese und Optimierung von Fe₃O₄-Nanoclustern wurden alle hergestellten Materialien mittels TEM, STEM, XRPD, FT-IR-Spektroskopie und SQUID untersucht.

5.5.2. Synthese von Fe₃O₄-Nanoclustern

Um die optimalen Fe₃O₄-Nanocluster zu entwickeln, die eine Gesamtgröße unter 100 nm aufweisen, eine günstige Oberflächenbeschichtung haben und superparamagnetisch sind, wurde die Synthese von Fe₃O₄ intensiv untersucht. Folgende Schritte erwiesen sich als wesentlich für eine optimale Synthese: N₂-Atmosphäre, ein fein abgestimmtes Lösungsmittelgemisch V_{EG}/V_{DEG} aus Ethylenglykol (EG) und Diethylenglykol (DEG), Citrat und Acetat für die Oberflächenmodifikation und die Entfernung eventueller Wasserkontaminationen durch Erhitzen des Reaktionsgemisches.

Daher wurden FeCl₃·6H₂O (3,468 g, 12,8 mmol), trockenes Natriumacetat (7,68 g, 93,6 mmol) und Tri-Natriumcitrat (2,08 g, 8,1 mmol) in einem Gemisch aus 10 mL Ethylenglykol und 150 mL Diethylenglykol in einem 250 mL Schlenkkolben unter Stickstoffatmosphäre gelöst. Nachdem die Abwesenheit von Wasser ein entscheidender Faktor war, wurde die Mischung 1 h lang offen bei 120 °C gerührt und dann in einen Teflon-beschichteten Edelstahl-Autoklaven mit 200 mL Fassungsvermögen überführt und 10 h lang bei 200 °C gehalten. Abschließend wurden die erhaltenen Fe₃O₄-Nanocluster einmal gründlich mit demineralisiertem Wasser und zweimal Ethanol gewaschen und in 200 mL Wasser oder Ethanol dispergiert (10,5 mg/mL).

Die Analyse der Fe₃O₄-Nanocluster mittels TEM ergab, dass diese Reaktionsbedingungen für ein Lösungsmittelgemisch mit einem Verhältnis von 1 : 15 von (V_{EG}/V_{DEG}) zur Bildung monodisperser 35,1 ± 4,5 nm großer Nanopartikel-Cluster mit einzelnen Nanopartikeln mit einer Größe von 6,4 ± 0,8 nm führen (**Abbildung 5.29a** und **b**). Somit konnte das erste und vermutlich wichtigste Kriterium – die Optimierung der Größe der Fe₃O₄-Nanocluster – erfüllt werden.

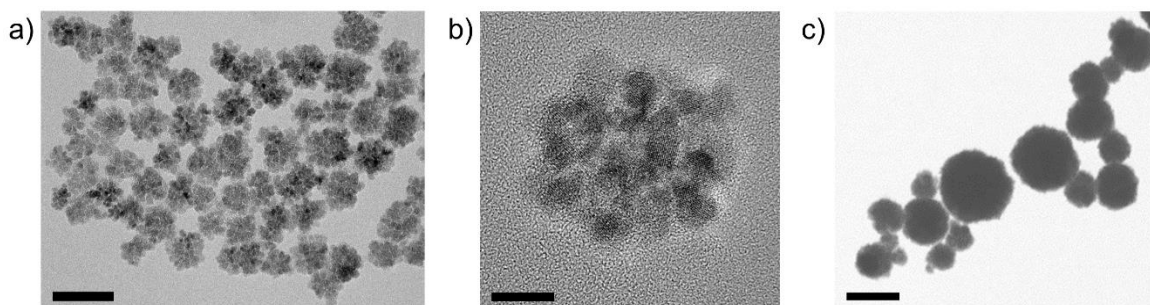


Abbildung 5.29: Fe₃O₄-Nanocluster, die unter den gleichen Synthesebedingungen, jedoch mit einem anderen Lösungsmittelgemisch mit einer mittleren Nanocluster-Größe von (a, b) 35,1 ± 4,5 nm (V_{EG}/V_{DEG} = 1 : 15) und (c) 91,4 ± 25,8 nm (V_{EG}/V_{DEG} = 1 : 3) erhalten wurden; Maßstabsbalken: (a, c) 50 nm und (b) 10 nm.

Es konnte zudem gezeigt werden, dass die Größe der resultierenden Fe₃O₄-Nanocluster durch einfache Variation des Lösungsmittelgemisches ($V_{\text{EG}}/V_{\text{DEG}}$) gesteuert wird. Bei einem Lösungsmittelgemisch mit einem Verhältnis von 1 : 3 ($V_{\text{EG}}/V_{\text{DEG}}$) ergab sich einer mittlere Partikelgröße von $91,4 \pm 25,8$ nm (**Abbildung 5.29c**). Diese Fe₃O₄-Nanocluster sind jedoch nicht monodispers und weisen eine hohe Standardabweichung auf. Folglich war das gewählte Lösungsmittelgemisch nicht optimal. Beim Mischen der beiden Lösungsmittel wird generell angenommen, dass sich der kleinere Anteil von Ethylenglykol homogen in Diethylenglykol verteilt und dass das Wachstum der Fe₃O₄-Nanocluster vorzugsweise in dieser kleineren Fraktion des Ethylenglykols stattfindet. Somit bestimmt die Menge und die Homogenität der Ethylenglykol-Dispersion die resultierende Größe der Fe₃O₄-Nanocluster. Bei einem Lösungsmittelgemisch mit einem Verhältnis von 1 : 3 ($V_{\text{EG}}/V_{\text{DEG}}$) ist die vorhandene Menge Ethylenglykol vermutlich noch zu groß und sollte schrittweise verringert werden, um monodisperse Fe₃O₄-Nanocluster zwischen 35 und 90 nm zu erhalten. Mit der Reduktion auf ein $V_{\text{EG}}/V_{\text{DEG}}$ -Verhältnis von 1 : 15 konnten Fe₃O₄-Nanocluster hergestellt werden, die im gewünschten Größenbereich lagen.

Der Vergleich des gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramms der Fe₃O₄-Nanocluster mit einem berechneten Röntgenpulverdiffraktogramm von Fe₃O₄ (ICSD: 26410) bestätigt, dass die Nanocluster ohne jegliche Verunreinigungen hergestellt wurden (**Abbildung 5.30**). Wie bereits in **Kapitel 5.2.2** erwähnt, deuten die breiten Reflexe im Pulverdiffraktogramm auf Nanokristallite hin.

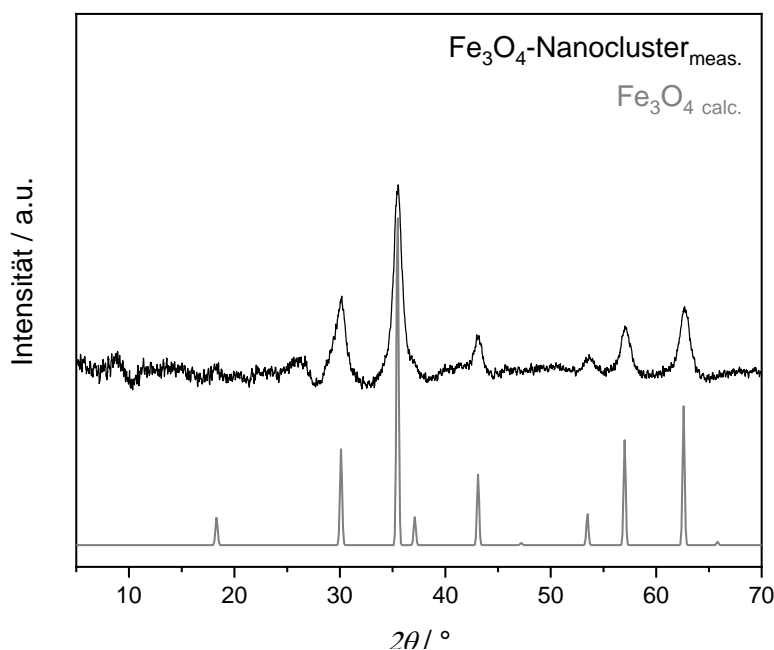


Abbildung 5.30: Vergleich des gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von Fe₃O₄-Nanoclustern (schwarz) mit dem berechneten Röntgenpulverdiffraktogramme (grau, ICSD: 26410).

Auch das zweite Kriterium konnte für die hergestellten Fe_3O_4 -Nanocluster erfüllt werden, da sie sich als stark hydrophil erwiesen. Dies wurde durch die Zugabe von Citrat und Acetat zum Reaktionsgemisch realisiert, die zu einer erfolgreichen Carboxylat-Beschichtung der Fe_3O_4 -Nanocluster führten. Diese Oberflächenmodifikation konnte auch mit Hilfe des FT-IR-Spektrums verifiziert werden, da die charakteristischen asymmetrischen und symmetrischen Streckschwingungen von COO^- bei 1365 und 1565 cm^{-1} , neben den typischen Banden der Fe-O-Schwingungen bei 590 und 640 cm^{-1} gefunden werden konnten (**Abbildung 5.31**).^[99]

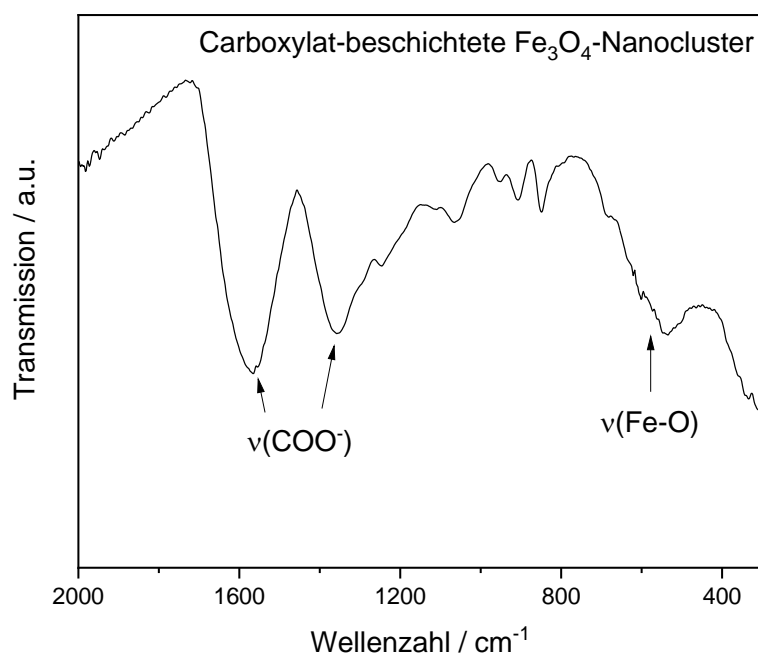


Abbildung 5.31: IR-Spektrum von Carboxylat-beschichteten Fe_3O_4 -Nanoclustern.

5.5.3. Magnetische Charakterisierung der Fe_3O_4 -Nanocluster

Die magnetischen Eigenschaften der Fe_3O_4 -Nanocluster wurden mit einem SQUID-Magnetometer bei Raumtemperatur analysiert. Die Magnetisierungskurve $M(H)$ der Fe_3O_4 -Nanocluster wurde dabei in Abhängigkeit vom externen Magnetfeld H gemessen (**Abbildung 5.32**).

Ausgehend von $M = 0$ bei $H = 0$ bei steigendem Feld, nähert sich die Magnetisierung bereits oberhalb von 5 kOe der Sättigung, kehrt bei abnehmendem Feld ohne jegliche Hysterese-Effekte auf Null zurück und zeigt analoges Verhalten für das inverse Magnetfeld. Die Sättigungsmagnetisierung der Fe_3O_4 -Nanocluster betrug $42,6\text{ emu/g}$, was in etwa der Hälfte des Wertes von großen Fe_3O_4 -Partikeln entspricht.^[189]

Da die Fe_3O_4 -Nanocluster in Abwesenheit eines externen Magnetfeldes keine Magnetisierung und keine Hysterese-Effekte zeigen, konnte ihr superparamagnetisches

Verhalten verifiziert werden. Folglich erfüllen die hergestellten Fe₃O₄-Nanocluster auch das dritte Kriterium und eignen sich somit als Basis für Kern-Schale-Nanopartikel.

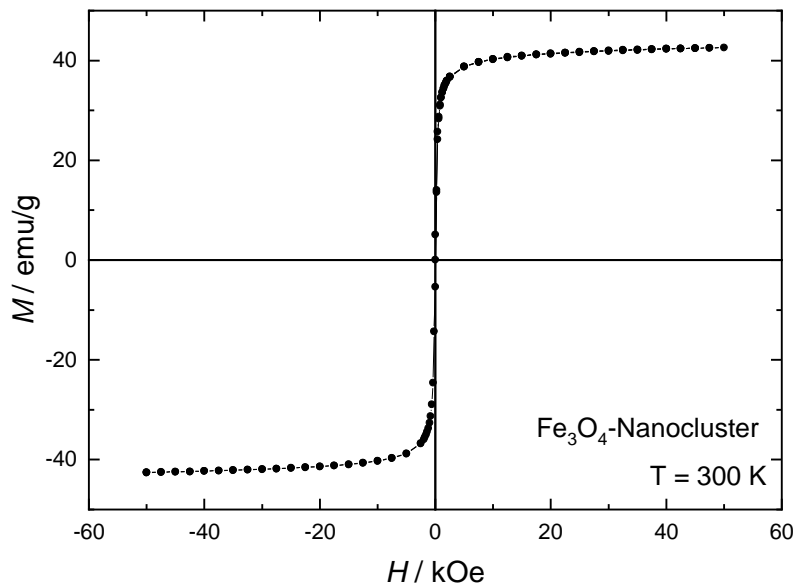


Abbildung 5.32: Magnetisierungskurve $M(H)$ von Fe₃O₄-Nanoclustern (schwarz), gemessen bei 300 K.

5.6. Fe₃O₄-MOF Kern-Schale-Nanopartikel

5.6.1. Einleitung

Die Kombination verschiedener Materialien mit jeweils herausragenden Eigenschaften ist eine effiziente Strategie, um neue Materialien mit synergetischen Eigenschaften zu entwickeln und so ihre individuellen Anwendungsbereiche zu erweitern. Eine erfolgreiche Kombination von Fe₃O₄-Nanoclustern mit MOF-Nanopartikeln stellt beispielsweise ein vielversprechendes Kompositmaterial für medizinische Anwendungen dar und könnte alle bisher vorhandenen Fe₃O₄-Kompositmaterialien deutlich übertreffen. Daher liegt der Fokus im folgenden Kapitel auf einer möglichst simplen Herstellung von Fe₃O₄-MOF Kern-Schale-Nanopartikeln.

Nachdem es im Rahmen dieser Dissertation erfolgreich gelungen ist oberflächenmodifizierte Fe₃O₄-Nanocluster mit einer Größe von etwa 35 nm herzustellen (**Kapitel 5.5**), sollte im nächsten Schritt das MOF-Schalen-Wachstum um diese Fe₃O₄-Kerne so optimiert werden, dass tatsächlich eine homogene Schale um die Fe₃O₄-Kerne herumwächst und sich die MOF-Nanopartikel nicht nur neben den Fe₃O₄-Kernen bilden.

Die verschiedenen, bereits bestehenden Fe₃O₄-MOF Synthesestrategien wurden in **Kapitel 2.5** bereits vorgestellt. In dieser Arbeit wurden nun jedoch ausschließlich Verkapselungsstrategien entwickelt, die dem Bereich der „Grünen Chemie“ zugeschrieben werden können. Im Sinne einer derartigen nachhaltigen Chemie sollte versucht werden die Umweltverschmutzung einzudämmen, Energie zu sparen und so möglichst umweltverträglich zu produzieren.^[190] Bei den Synthesen wurde daher Wert darauf gelegt, das Lösemittelvolumen auf ein Minimum zu reduzieren und mit möglichst umweltverträglichen Lösemitteln wie Wasser zu arbeiten. Wenn die Verwendung kritischerer Lösemittel wie DMF nötig war, wurde versucht dessen Volumen durch den Einsatz von Gemischen zu minimieren. Desweiteren wurden nur Synthesen bei Raumtemperatur entwickelt, um somit die gesamte Energieeffizienz dieser zu verbessern. In **Abbildung 5.33** ist ein Überblick über die in dieser Dissertation optimierte Verkapselungsstrategie und die Aufarbeitung von Fe₃O₄-MOF Kern-Schale-Nanopartikeln in sechs Schritten dargestellt.

Im ersten Schritt **(I)** werden die oberflächenmodifizierten Fe₃O₄-Nanocluster in einem Lösungsmittel durch ein Ultraschallbad homogen dispergiert. Das Lösungsmittel muss dabei sorgfältig ausgewählt werden, da es sowohl die Dispersion der Fe₃O₄-Nanocluster als auch eine moderate Wachstumsgeschwindigkeit des MOF ermöglichen muss. Im Falle der Carboxylat-beschichteten Fe₃O₄-Nanoclustern stellen Wasser, Alkohol (Methanol oder Ethanol) und auch DMF eine gute Möglichkeit dar. In Schritt **(II)** und **(III)** werden die MOF-

Vorläuferverbindungen, sprich der organische Ligand und das Metall-Salz, nacheinander zu der Fe_3O_4 -Dispersion zugegeben. Je nach MOF kann die Zugabe entweder in Form einer Lösung oder als Feststoff erfolgen und auch die Reihenfolge der Zugabe kann variiert werden. Das heißt entweder zuerst organischer Ligand, dann Metall-Salz oder auch umgekehrt. Nach einer entsprechenden Reaktionszeit für das MOF-Wachstum wird in Schritt (IV) das Reaktionsgefäß auf einem externen Magneten platziert, damit die Fe_3O_4 -MOF-Kern-Schale-Nanopartikel von den MOF-Partikeln ohne Fe_3O_4 -Kern getrennt werden können. Nach gründlichem Waschen der Fe_3O_4 -MOF-Kern-Schale-Nanopartikel in Schritt (V) wird schließlich in Schritt (VI) das Endprodukt erhalten.

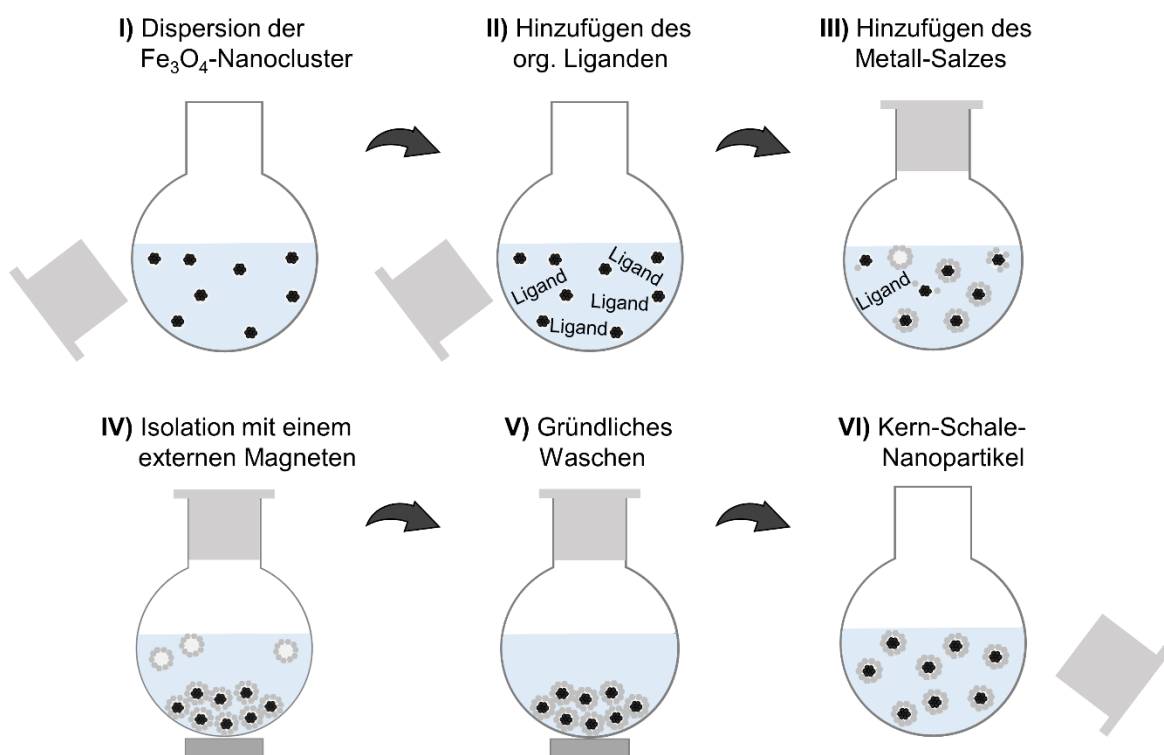


Abbildung 5.33: Überblick über die Verapselungsstrategie und Aufarbeitung von Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikeln: (I) Dispersion der Fe_3O_4 -Nanocluster; (II) Mischen mit dem organischen Liganden des MOFs; (III) Hinzufügen des Metall-Salzes und MOF-Wachstum um den Fe_3O_4 -Kern; (IV) Isolation der Kern-Schale-Nanopartikel mit einem externen Magneten; (V) Entfernen von MOF-Nanopartikeln ohne Fe_3O_4 -Kern; (VI) Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel.

Im Folgenden wird die Kombination von drei verschiedenen MOFs – MOF-74(Mg), UiO-66- NH_2 (Zr) und ZIF-8(Zn) – bei Raumtemperatur mit die etwa 35 nm großen Fe_3O_4 -Nanocluster untersucht. Die hergestellten Materialien wurden mittels TEM, STEM, XRPD und FT-IR-Spektroskopie untersucht.

5.6.2. Fe₃O₄-MOF-74(Mg)

Um das Mg-basierte MOF-74 mittels Verkapselungsansatz um die etwa 35 nm großen Fe₃O₄-Nanocluster aufzuwachsen, wurde ein wohldefiniertes Lösungsmittelgemisch aus DMF, H₂O und EtOH ausgearbeitet. Zudem wurden eine kleine Menge Triethylamin verwendet, um das MOF-Wachstum bei Raumtemperatur zu unterstützen.

Zunächst wurden 5 mL DMF mit 600 µL H₂O, 13 mg Fe₃O₄-Nanopartikeln und Mg(NO₃)₂·6H₂O (95 mg, 0,37 mmol) gemischt. Dann wurden 2,5 mL DMF, 2,5-Dihydroxybenzol-1,4-dicarbonsäure (20 mg, 0,1 mmol) und 75 µL Triethylamin gemischt und mit 600 µL H₂O sowie 600 µL Ethanol verdünnt. Die beiden Lösungen wurden gemischt und für 45 min bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschließend wurde die Probe mit einem externen Magneten isoliert und einmal mit DMF und dreimal mit Ethanol gewaschen. Schließlich wurde sie bei Umgebungsdruck bei 75 °C getrocknet.

Die erfolgreiche und phasenreine Kombination von Fe₃O₄-Nanoclustern und MOF-74(Mg) konnte durch XRPD-Analyse (**Abbildung 5.34a**) und FT-IR-Spektroskopie (**Abbildung 5.34b**) verifiziert werden.

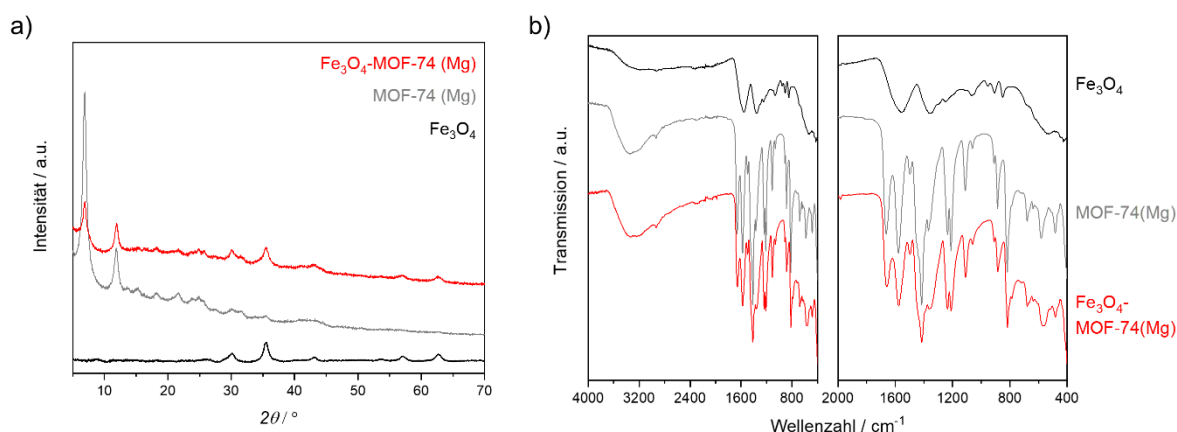


Abbildung 5.34: (a) Röntgenpulverdiffraktogramme und (b) FT-IR-Spektren von Fe₃O₄ (schwarz), MOF-74(Mg) (grau) und Fe₃O₄-MOF-74(Mg) (rot).

Mittels STEM-Analyse konnte abschließend die erfolgreiche Synthese von Fe₃O₄-MOF-74(Mg)-Nanopartikeln mit Kern-Schale-Struktur visualisiert werden (**Abbildung 5.35**). Dabei konnte eine durchschnittliche Partikelgröße von $49,8 \pm 5,0$ nm ermittelt werden.

Die aufgewachsene MOF-74(Mg)-Schale war zwar sehr homogen, doch leider nur etwa 7,5 nm dick. Um eine effiziente Wirkstoff-Beladung zu ermöglichen wäre jedoch eine dickere MOF-Schale wünschenswert. Nachdem die Fe₃O₄-MOF-74(Mg) Kern-Schale-Nanopartikel durch das simple Vermischen zweier unabhängig voneinander vorbereiteter Lösungen erhalten wurden, bieten sich einige Möglichkeiten, die Reaktionsbedingungen weiter zu

optimieren. Hierbei ist jedoch darauf zu achten, dass die Reihenfolge und das Verhältnis des Lösemittelgemisches nicht verändert werden, denn diese beiden Faktoren verhindern die Agglomeration der Fe_3O_4 -Nanocluster während der Synthese. Folglich sollte eine Verlängerung der Reaktionszeit oder eine Erhöhung der Vorläufer-Komponenten des MOFs recht einfache, zukünftige Optimierungsmöglichkeiten der Kern-Schale-Nanopartikel darstellen. Diese wurden allerdings im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter analysiert.

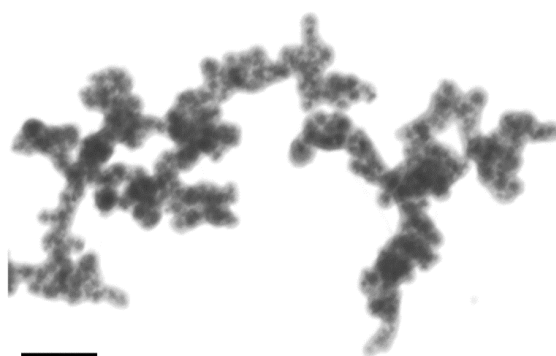


Abbildung 5.35: Fe_3O_4 -MOF-74(Mg) Kern-Schale-Nanopartikel mit einem etwa 35 nm großen Fe_3O_4 -Kern; Maßstabsbalken: 200 nm.

5.6.3. Fe_3O_4 -UiO-66- NH_2 (Zr)

Auch für die Synthese von Fe_3O_4 -UiO-66- NH_2 Kern-Schale-Nanopartikel mit etwa 35 nm großen Fe_3O_4 -Nanoclustern wurde eine Verkapselungsstrategie mit äußerst milden Bedingungen entwickelt. Zu diesem Zweck wurde zunächst eine größere Menge der Zr_6 -Cluster analog zu einer in der Literatur berichteten Synthese bei erhöhten Temperaturen hergestellt,^[191] und anschließend wurden diese als Vorläuferverbindung für die Fe_3O_4 -UiO-66- NH_2 Kern-Schale-Nanopartikel-Synthese bei Raumtemperatur verwendet.

Folglich wurde zuerst Benzoesäure (100 g, 0,82 mol) im Ultraschallbad in 300 mL 1-Propanol und 15 mL 80 Gew.-% $\text{Zr}(\text{O}i\text{Bu})_4$ in *n*-Butanol gelöst. Dann wurde die Mischung über Nacht unter Rückflussschaltung bei 115 °C erhitzt. Überschüssiges 1-Propanol wurde entfernt, und der entstandene weiße Feststoff wurde gründlich mit 1-Propanol gewaschen und bei Umgebungsdruck bei 75 °C getrocknet. Danach wurden 20 mg Fe_3O_4 -Nanocluster und 2-Aminoterephthalsäure (82 mg, 0,45 mmol) für 15 min in 5 mL DMF im Ultraschallbad dispergiert. Währenddessen wurden 200 mg der Zr_6 -Cluster in 10 mL einer Mischung aus DMF und Essigsäure (7 : 4) gelöst und anschließend mittels einer Spritzenpumpe (0,05 mL/min) tropfenweise zum Fe_3O_4 -Gemisch zugegeben. Nach 24 h wurde die Probe mit einem externen Magneten isoliert, jeweils zweimal mit DMF und Ethanol gewaschen und bei Umgebungsdruck bei 75 °C getrocknet.

Die XRPD-Analyse (**Abbildung 5.36a**) und FT-IR-Spektroskopie (**Abbildung 5.36b**) erwiesen sich als äußerst hilfreich, um die erfolgreiche und phasenreine Kombination von Fe₃O₄ und UiO-66-NH₂(Zr) zu verifizieren.

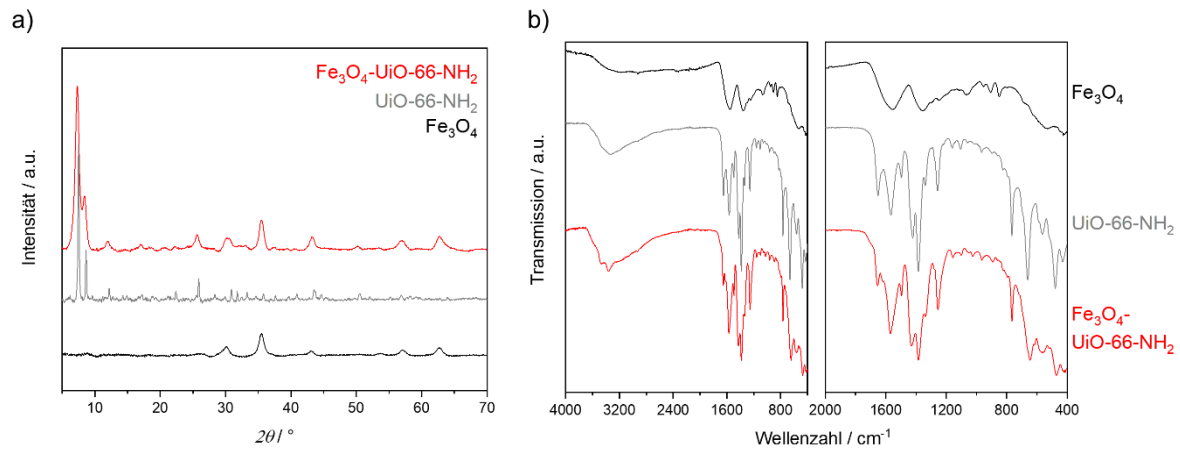


Abbildung 5.36: (a) Röntgenpulverdiffraktogramme und (b) FT-IR-Spektren von Fe₃O₄ (schwarz), UiO-66-NH₂(Zr) (grau) und Fe₃O₄-UiO-66-NH₂(Zr) (rot).

Zudem konnte die erfolgreiche Synthese der Kern-Schale-Nanopartikeln für beide Fe₃O₄-Nanocluster mittels STEM-Analyse visualisiert werden (**Abbildung 5.37**). Die Evaluation der durchschnittlichen Partikelgröße ergab $64,1 \pm 6,1$ nm.

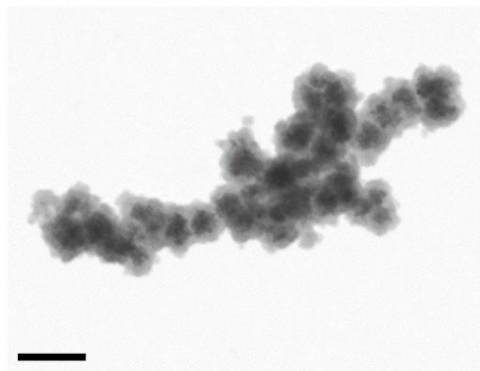


Abbildung 5.37: Fe₃O₄-UiO-66-NH₂(Zr) Kern-Schale-Nanopartikel mit einem etwa 35 nm großen Fe₃O₄-Kern; Maßstabsbalken: 100 nm.

Die Fe₃O₄-UiO-66-NH₂(Zr) Kern-Schale-Nanopartikel wurden folglich mit einer etwa 15 nm dicken UiO-66-NH₂-Schale hergestellt. Diese Schale ist äußerst homogen und bestätigt somit, dass eine sehr günstige Zutropf-Geschwindigkeit der Zr₆-Cluster gewählt wurde. Ausgehend von den gesammelten Forschungsergebnissen, ließe sich die resultierende Dicke der MOF-Schale vermutlich recht unkompliziert durch das Erhöhen der eingesetzten Vorläufer-Komponenten des MOFs bei derselben Zutropf-Geschwindigkeit erreichen.

5.6.4. $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8(Zn)}$

Bei der Entwicklung eines Verkapselungsansatzes von etwa 35 nm großen Fe_3O_4 -Nanoclustern mit ZIF-8 lag der Fokus beim Wachstum einer homogenen ZIF-8-Schale auf der Optimierung des Lösungsmittel-Gemisches. Denn zum einen sollten die magnetischen Fe_3O_4 -Nanocluster gut homogen dispergiert sein (d.h. Wasser wird als Lösungsmittel bevorzugt) und zum anderen sollte eine moderate Wachstumsgeschwindigkeit der ZIF-8-Schale für ein tatsächliches Wachstum auf der Oberfläche der magnetischen Fe_3O_4 -Nanocluster erreicht werden (d.h. Methanol wird als Lösungsmittel bevorzugt).

Daher wurden 17 mg der Fe_3O_4 -Nanocluster in einer Mischung aus 1,6 mL demineralisiertem Wasser und 5 mL Methanol dispergiert und dann mit einer Lösung des organischen Liganden 2-Methylimidazol (850 mg, 0,01 mol) in 25 mL Methanol gemischt und 15 min im Ultraschallbad gehalten. Anschließend wurde eine Lösung aus $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (89 mg, 0,5 mmol) in 10 μL demineralisiertem Wasser und 10 mL Methanol hinzugefügt, und die Synthese wurde bei Raumtemperatur durchgeführt. Als optimale Reaktionsbedingungen ergaben sich dabei 30 min Reaktionszeit und 15 min Isolation mit einem externen Magneten. Abschließend wurden die hergestellte Probe dreimal gründlich mit Methanol gewaschen und unter Umgebungsdruck bei 75 °C getrocknet.

Die Probencharakterisierung durch XRPD (**Abbildung 5.38a**) und FT-IR (**Abbildung 5.38b**) verifizierte, dass die hergestellte Probe lediglich die Fe_3O_4 -Nanocluster und die ZIF-8-Schale enthält.

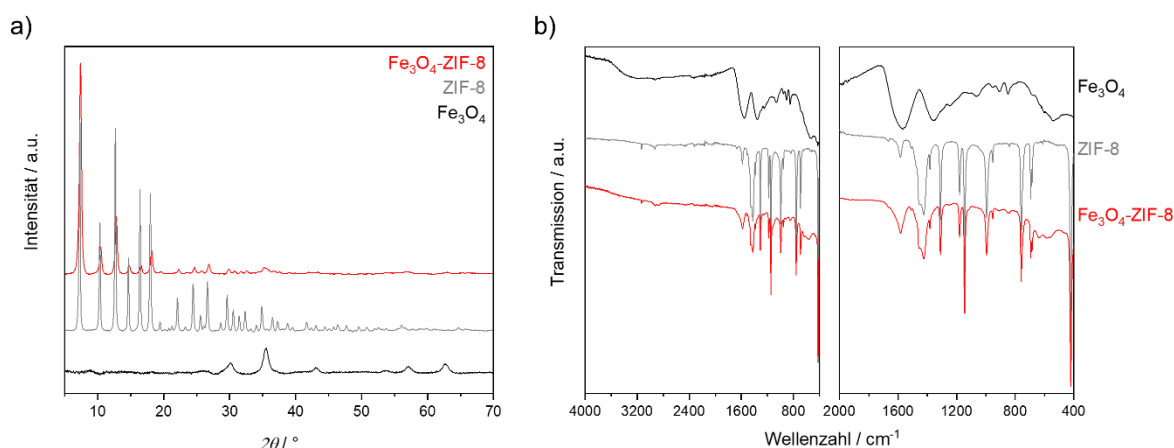


Abbildung 5.38: (a) Röntgenpulverdiffraktogramme und (b) FT-IR-Spektren von Fe_3O_4 (schwarz), ZIF-8(Zn) (grau) und $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8(Zn)}$ (rot).

Die anschließende Analyse mit dem TEM zeigte, dass die erhaltenen $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ Nanopartikel tatsächlich eine Kern-Schale-Struktur mit einer Gesamtgröße von etwa 97 ± 8 nm aufwiesen (**Abbildung 5.39**).

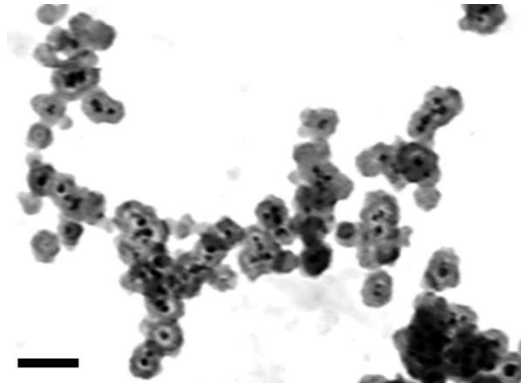


Abbildung 5.39: Fe₃O₄-ZIF-8(Zn) Kern-Schale-Nanopartikel mit einem etwa 35 nm großen Fe₃O₄-Kern; Maßstabsbalken: 200 nm.

Mit einer Gesamtgröße von etwa 100 nm und einer ZIF-8-Schale von etwa 30 nm, weisen die Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel eine ideale Größe für den Einsatz im medizinischen Bereich auf. Da sich ZIF-8 Nanopartikel bereits als besonders geeignetes Trägermaterial für arsenhaltige Wirkstoffe erwiesen haben (**Kapitel 5.3**), sollte auch die Eignung der Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als Trägermaterial im folgenden Kapitel untersucht werden.

5.7. Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als theragnostisches Drug Delivery System für Arsentrioxid

Nachdem sich ZIF-8 Nanopartikel im Rahmen dieser Dissertation als vielversprechendstes Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe erwiesen haben, wurden im letzten Abschnitt dieser Dissertation Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als potentieller Kandidat für theragnostische Anwendungen entwickelt und untersucht. Hierbei bringt die Integration eines Fe₃O₄-Kerns in das Wirkstoff-Trägermaterial zusätzliche diagnostische Funktionen mit sich, da somit die Visualisierung des Drug Delivery Systems mittels Magnetresonanztomographie (MRT) ermöglicht wird. Das folgende Kapitel ist in Anlehnung an die dabei entstandene Veröffentlichung „*In Vitro* Studies of Fe₃O₄-ZIF-8 Core-Shell Nanoparticles Designed as Potential Theragnostics“ im *Journal Particle and Particle Systems Characterization* verfasst worden.^[192]

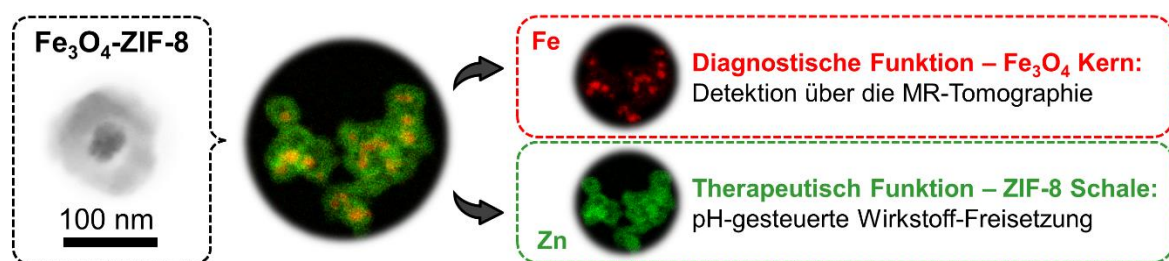


Abbildung 5.40: Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel – ein Modellbeispiel für ein Theragnostikum, das sich für den Nachweis mittels MRT und für eine kontrollierte, pH-abhängige Wirkstoff-Freisetzung eignet.

5.7.1. Einleitung

Wie in **Kapitel 2.1** erwähnt, stellt die Theragnostik die Kombination von Therapie und Diagnose in einem System dar und ist ein noch relativ junges Gebiet in der medizinischen Forschung.^[41] Eine derartig nahtlose Verbindung von Therapie, Diagnose und der Überprüfung des Ansprechens auf eine Therapie in einem einzigen System wäre ein großer Fortschritt – insbesondere bei der Behandlung onkologischer Erkrankungen.^[26] Zudem könnte gleichzeitig eine gezieltere, effizientere Patientenbehandlung und eine Reduzierung der klinischen Kosten und Ressourcen erreicht werden.^[21,44]

Trotz intensiver Forschung wurde bisher jedoch kein Theragnostikum für die Verabreichung von hochtoxischen arsenhaltigen Wirkstoffen entwickelt. Daher sollten im Rahmen dieser Dissertation superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel (SPIOs, Fe₃O₄) als gut untersuchtes Diagnostikum mit ZIF-8-Nanopartikeln als Wirkstoff-Trägermaterial kombiniert werden.^[24,193]

Wie bereits in **Kapitel 5.3** beschrieben, ist die Metall-organische Gerüstverbindung ZIF-8 aufgrund seiner nicht-toxischen Komponenten, einer hohen Wirkstoff-Beladungskapazität und einer sehr günstigen pH-abhängigen Materialstabilität ideal als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe geeignet.^[91] Daher war es von großem Interesse ZIF-8 im Folgenden auf Fe_3O_4 -Nanocluster aufzuwachsen, sodass die Eignung der resultierenden Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als Theragnostikum, das zum einen die Bildgebung durch das MRT ermöglicht und zum anderen ein effizientes Arsentrioxid Drug Delivery System darstellt, untersucht werden konnte. In **Abbildung 5.41** sind die dafür nötigen Arbeitsschritte schematisch dargestellt.

Nachdem es bereits erfolgreich gelungen war oberflächenmodifizierte Fe_3O_4 -Nanocluster mit einer Gesamtpartikelgröße von $35,1 \pm 4,5$ nm herzustellen (**Kapitel 5.5**) und eine umweltfreundliche Verkapselungsstrategie zu entwickeln mit der Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel mit einer Gesamtgröße unter 100 nm erhalten werden können (**Kapitel 5.6.4**), sollte anschließend eine effiziente ATO-Beladungsstrategie der hergestellten Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel entwickelt werden. Zuletzt sollte deren Beschichtung mit einem Polymer wie Polyethylenglykol erforscht werden, um ihre Biokompatibilität zu verbessern.

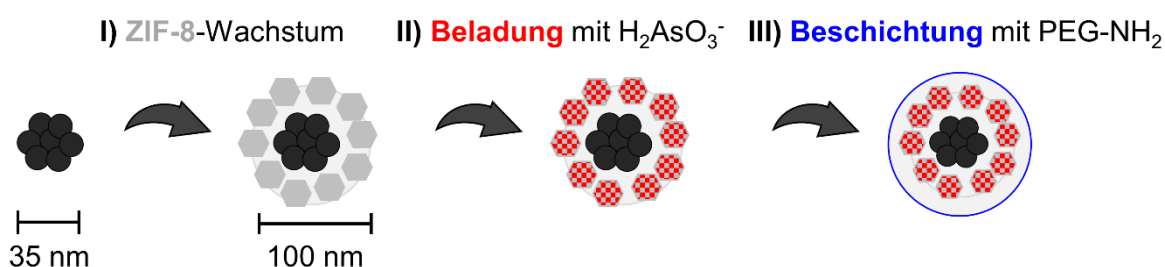


Abbildung 5.41: Überblick über die Herstellung von Kern-Schale-Nanopartikeln, die für den Wirkstoff-Transport geeignet sind: (I) Synthese der Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel; (II) Beladung mit dem Wirkstoff H_2AsO_3^- und (III) Beschichtung mit Polyethylenglykol (PEG- NH_2).

Alle hergestellten Materialien wurden mittels FT-IR, TGA, XRPD, TEM, STEM, ICP-OES, CHN-Elementaranalyse, EDS-Element-Mapping, SQUID und *in vitro* MRT untersucht und zudem wurden ihre chemische Stabilität und *in vitro* Zytotoxizität ermittelt.

5.7.2. Synthese der Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel

Die Synthese der Fe_3O_4 -ZIF-8-Kern-Schale-Nanopartikel erfolgte analog zu der Beschreibung in **Kapitel 5.6.4**. Die Fe_3O_4 -Nanocluster mit einer Gesamtpartikelgröße von $35,1 \pm 4,5$ nm (**Abbildung 5.42a**) konnten nach der Entwicklung eines geeigneten Verkapselungsansatzes erfolgreich mit ZIF-8 beschichtet werden. Die Visualisierung der

hergestellten Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel mit dem TEM bestätigte deren Gesamtgröße von etwa 97 ± 8 nm (**Abbildung 5.42b** und **Abbildung E1**).

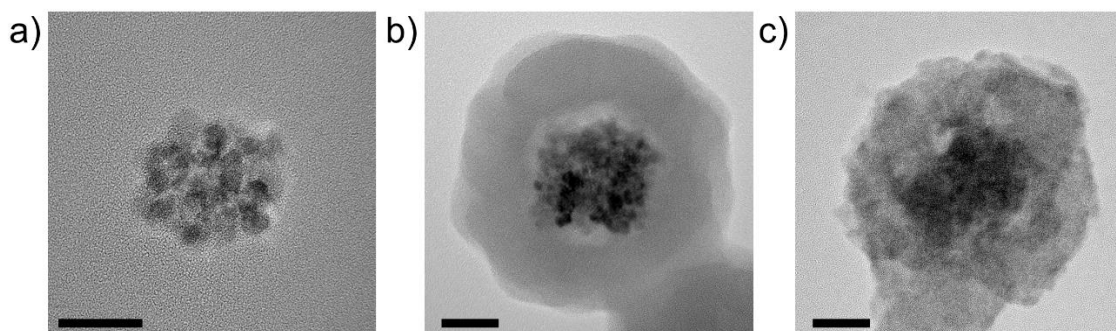


Abbildung 5.42: Hochauflösende TEM-Aufnahmen von (a) Fe₃O₄ Nanoclustern, (b) PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln und (c) PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln; Maßstabsbalken: 20 nm.

5.7.3. Wirkstoff-Beladung

Um eine partielle Schädigung oder Agglomeration der erhaltenen Kern-Schale-Nanopartikel zu verhindern, wurden die Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel vor der Beladung mit dem arsenhaltigen Wirkstoff nicht getrocknet, sondern nur dreimal gründlich mit Methanol gewaschen. Für die Präparation einer wässrigen Arsenlösung wurde Natrium(meta)arsenit (NaAsO₂) als Vorläufverbindung von Arsentrioxid verwendet, da dieses eine hohe Wasserlöslichkeit besitzt. Der pH-Wert der wässrigen Lösung (7,7 mM) wurde mit 1 M HCl auf pH 7 eingestellt, um As(OH)₃ zu erzeugen. 45 mg der Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikel wurden für 2 h in 16 mL demineralisiertem Wasser und 8 mL der frisch zubereiteten 7,7 mM wässrigen Arsenlösung dispergiert bei Raumtemperatur aufbewahrt. Danach wurden die arsenhaltigen As@Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel für 30 min mit einem externen Magneten isoliert und dreimal gut mit demineralisiertem Wasser gewaschen, um alle nicht gebundenen Arsen-Reste von den Nanopartikeln zu entfernen.

5.7.4. Beschichtung der Kern-Schale-Nanopartikel

Um die Dispergierbarkeit der Nanopartikel in wässrigen Lösungen zu verbessern, wurde ihre Oberfläche anschließend mit Polyethylenglykol beschichtet - einem biokompatiblen Polymer, das in der Biomedizin weit verbreitet ist.^[186] Es wurde ein aminofunktionalisiertes Derivat des Polyethylenglykols, nämlich Alpha-Methoxy-Omega-Amino-Polyethylenglykol mit einer durchschnittlichen Molekularmasse von 5516 Da, PEG-NH₂, verwendet, um koordinative Wechselwirkungen zwischen den Aminoendgruppen des Polymers und den Zinkzentren des MOF zu ermöglichen. Dadurch wird das Polymer an die Oberfläche gebunden und somit wird ein Eindringen in die Poren des Netzwerkes verhindert.^[187] Hierbei

wurden sowohl 45 mg arsenfreie Fe_3O_4 -ZIF-8 Nanopartikel als auch arsenhaltige $\text{As@Fe}_3\text{O}_4$ -ZIF-8 Nanopartikel in 5 mL einer 1,6 mM wässrigen Lösung von PEG- NH_2 dispergiert und bei Raumtemperatur aufbewahrt. Nach 2 h wurde die jeweilige Probe 30 min mit einem externen Magneten isoliert, dreimal mit demineralisiertem Wasser gewaschen und unter Umgebungsdruck bei 75 °C getrocknet. Dadurch konnten die beiden Proben, bezeichnet als $\text{PEG-NH}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ und $\text{PEG-NH}_2\text{@As@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$, im weiteren Verlauf ausgezeichnet miteinander verglichen werden (**Abbildung 5.42b** und **c**).

5.7.5. Charakterisierung der Kern-Schale-Nanopartikel

Trotz der hohen Komplexität der $\text{PEG-NH}_2\text{@As@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ Kern-Schale-Nanopartikel war ihre Charakterisierung einschließlich der Qualifizierung sowie Quantifizierung der Wirkstoff-Beladung und der PEG- NH_2 -Beschichtung möglich.

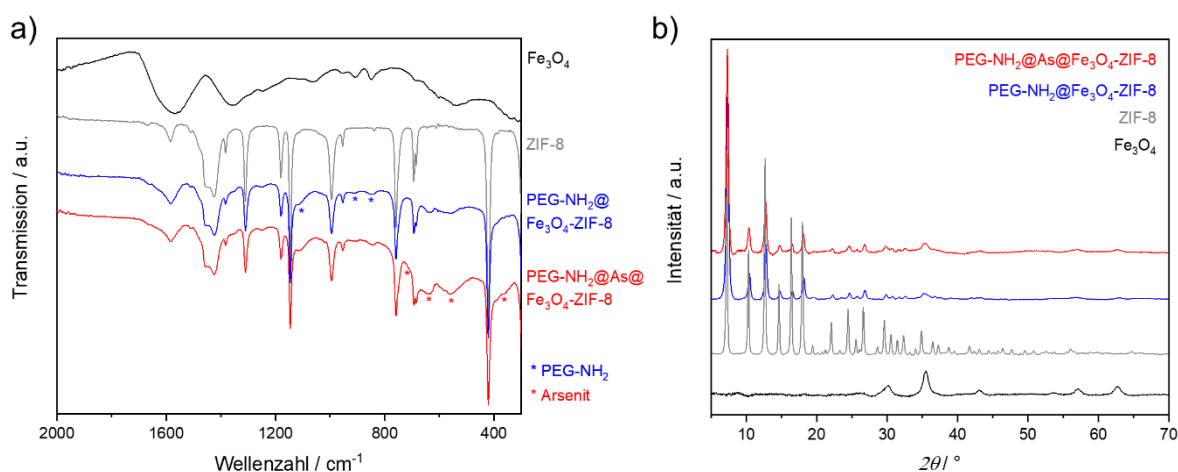


Abbildung 5.43: (a) FT-IR-Spektren im Bereich von 2000 bis 300 cm^{-1} und (b) Röntgenpulverdiffraktogramme von Fe_3O_4 (schwarz), ZIF-8 (grau), $\text{PEG-NH}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ (blau) und $\text{PEG-NH}_2\text{@As@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ (rot).

Die Probencharakterisierung durch FT-IR (**Abbildung 5.43a** und **Abbildung E3**) und XRPD (**Abbildung 5.43b**) verifizierte, dass beide Proben, $\text{PEG-NH}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ und $\text{PEG-NH}_2\text{@As@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$, sowohl Fe_3O_4 als auch ZIF-8 enthalten. In ihren FT-IR-Spektren wurden neben den charakteristischen Banden von ZIF-8 neue Banden bei 590, 640 cm^{-1} und eine Verbreiterung bei 1600 cm^{-1} gefunden, die den carboxylatbeschichteten Fe_3O_4 -Nanoclustern entsprechen.^[99] Darüber hinaus wurden auch zusätzliche Banden bei 840, 1100, 1250 und 2870 cm^{-1} detektiert, die C-H-Deformationsschwingungen, O-H und C-O-H-Streckschwingungen der PEG- NH_2 -Beschichtung entsprechen.^[187] Die erfolgreiche Beschichtung wurde zudem auch durch eine thermogravimetrische Analyse bestätigt, die zeigte, dass in $\text{PEG-NH}_2\text{@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ und $\text{PEG-NH}_2\text{@As@Fe}_3\text{O}_4\text{-ZIF-8}$ 6,1 Gew.-% bzw. 6,4 Gew.-% PEG- NH_2 -Beschichtung vorhanden waren (**Abbildung E4**). Zusätzlich

bestätigte die Visualisierung der Nanopartikel mittels TEM, dass der Kern-Schale-Typ der Struktur nach der Wirkstoff-Beladung und Oberflächenmodifikation erhalten blieb (**Abbildung 5.42** und **Abbildung E1**).

Die FT-IR-Spektroskopie wurde auch eingesetzt, um die Wirkstoff-Beladung in PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 zu qualifizieren. Wie bereits in **Kapitel 5.3** berichtet wurde,^[181] werden die Arsenit-Anionen (H₂AsO₃⁻) über einen postsynthetischen Ligandenaustausch an die Struktur des neutralen Netzwerkes ZIF-8 [Zn(C₄N₂H₅)₂] gebunden. Aufgrund dieses Austausches traten neue Banden bei 360, 550, 660 und bei 710 cm⁻¹ auf (**Abbildung 5.43a**), die der As-OH-Deformationsschwingung und den symmetrischen und asymmetrischen Streckschwingungen von As(OH)₂ und As-O entsprechen und mit den Daten aus der Literatur übereinstimmen.^[179] Obwohl diese erheblich mit den Banden des Fe₃O₄-Kern überlappten, war dennoch eine deutliche Zunahme der Signalintensität der dem Arsenit zugeordneten Banden erkennbar. Folglich bestätigten alle Ergebnisse der FT-IR-Spektroskopie, dass sowohl die Synthese, die Wirkstoff-Beladung und die Beschichtung erfolgreich waren. Zudem stimmen sie hervorragend mit den Ergebnissen in **Kapitel 5.3** überein.^[181]

Zur weiteren Validierung des Austauschs des Imidazolat-Ligandens mit dem Arsenit-Liganden nach der Wirkstoff-Beladung wurden das arsenfreie Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 sowie das arsenhaltige As@Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 mittels CHN-Elementaranalyse analysiert (**Tabelle E1**). In den arsenfreien Proben, Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8, konnte eine MOF-Summenformel von Zn(C₄N₂H₅)_{1,94} und Zn(C₄N₂H₅)_{1,91} ermittelt werden, was 0,06 bzw. 0,09 fehlenden Liganden pro Zinkkation entspricht. Diese Abweichung lässt sich durch geringfügige Mängel im Netzwerk erklären. Nach der Beladung mit Arsenit (d.h. für die Proben As@Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8) erhöhte sich die Anzahl der fehlenden Liganden pro Zinkatom jedoch deutlich auf 0,32 bzw. 0,33 (Summenformel: Zn(C₄N₂H₅)_{1,68} und Zn(C₄N₂H₅)_{1,67}). Diese Ergebnisse stimmen sehr gut mit dem berichteten Strukturmodell für an ZIF-8-Nanopartikel gebundenes Arsenit in **Kapitel 5.3** überein und untermauern den partiellen Ligandenaustausch durch Arsenit.^[181]

Die Quantifizierung der Arsen-Menge mittels ICP-OES-Analyse ergab ein Verhältnis von Zn : As von 1 : 0,20 ± 0,02 (Mittelwert aus drei Messungen). Auch diese Befunde stimmen sehr gut mit den in **Kapitel 5.3** beschriebenen Ergebnissen überein, die auf einem Strukturmodell für ZIF-8 als Wirkstoff-Trägermaterial basieren,^[181] und deuten somit eindeutig darauf hin, dass der arsenhaltige Wirkstoff erfolgreich in das Trägermaterial integriert wurde. Die detektierte Arsen-Menge entspricht etwa 53 mg Arsen oder 70 mg As₂O₃, die in 1 g Trägermaterial eingebracht wurden. Dies weist im Vergleich zum berichteten Wert von 74 mg Arsen oder 98 mg As₂O₃ in 1 g ZIF-8 als Trägermaterial

(**Kapitel 5.3**) eine etwas geringere Beladungskapazität auf,^[181] was aber hauptsächlich auf den Beitrag des Fe_3O_4 -Kerns zur Gesamtmaterialmasse zurückzuführen ist.

Als abschließende Untersuchung wurden Elementverteilungsbilder für die jeweiligen Elemente des Fe_3O_4 -Kerns (d.h. Fe und O), der ZIF-8-Schale (d.h. Zn, C und N) und des arsenhaltigen Wirkstoffes (d.h. As und O) mit dem TEM aufgenommen (**Abbildung 5.44** und **Abbildung E2**). Die Überlagerung der Elemente Fe und Zn in **Abbildung 5.44b** verdeutlichte erfolgreich das Vorhandensein von Fe im Kern und Zn in der Schale der Kern-Schale-Struktur der Nanopartikel. Darüber hinaus ist durch die Elementverteilungsbilder eindeutig erkennbar, dass As innerhalb der ZIF-8-Schale homogen verteilt ist (**Abbildung 5.44g**). Das Elementverteilungsbild des Elements O, das Teil des Kerns und des Wirkstoffes ist, bestätigte alle anderen Ergebnisse perfekt (**Abbildung 5.44h**): Als Teil des Kerns zeigte O eine hohe Intensität im gleichen Bereich wie Fe und als Teil des Wirkstoffes war O innerhalb der ZIF-8-Schale ebenso homogen verteilt wie As.

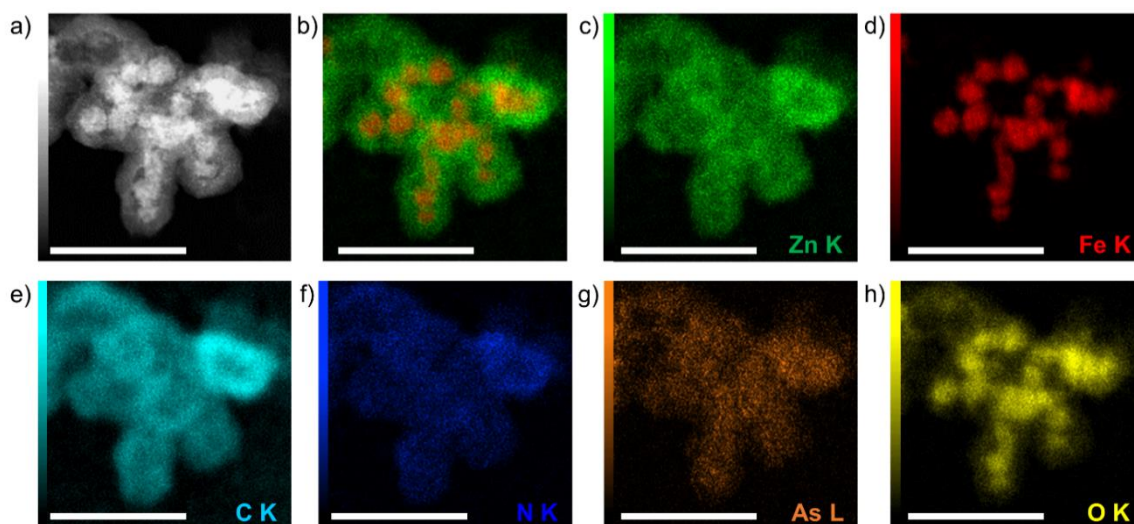


Abbildung 5.44: Elementverteilungsbilder von $\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$: (a) Dunkelfeld-STEM-Bild, (b) eine Überlagerung der Elementverteilungsbilder von Zn (grün) und Fe (rot) und die Elementverteilungsbilder von (c) Zn (grün), (d) Fe (rot), (e) C (hellblau), (f) N (dunkelblau), (g) As (orange) und (h) O (gelb); Maßstabsbalken: 200 nm.

5.7.6. Wirkstoff-Freisetzung

Bei der Herstellung von Trägermaterialien für den Transport arsenhaltiger Wirkstoffe ist ein grundlegender Einblick in die Arsen-Freisetzungskinetik aus $\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$ Nanopartikeln unter simulierten Körperbedingungen unerlässlich. Daher wurden 10 mg $\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$ in 10 mL einer 0,01 M phosphatgepufferten Kochsalzlösung mit zwei verschiedenen pH-Werten (pH 6 und pH 7,4) bei 37 °C dispergiert, um die

Mikroumgebung von Tumor- und gesundem Gewebe zu imitieren.^[31] Nach 1, 4, 6, 24, 48, 72 oder 168 h wurde 1 mL der Lösung zur Analyse entnommen und durch 1 mL einer frischen phosphatgepufferten Kochsalzlösung ersetzt. Die Menge an Arsen, Eisen und Zink in dem entnommenen 1 mL der Probe wurde durch ICP-OES-Analyse bestimmt (**Abbildung 5.45**, **Abbildung E5**, **Abbildung E6** und **Tabelle E2-Tabelle E4**). Die Freisetzungsstudien wurden in Triplikaten durchgeführt, die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt. Darüber hinaus wurden die nach 4 h, 24 h und 168 h verbliebenen Nanopartikel mittels XRPD-, FT-IR-, STEM- und ICP-OES-Analysen analysiert.

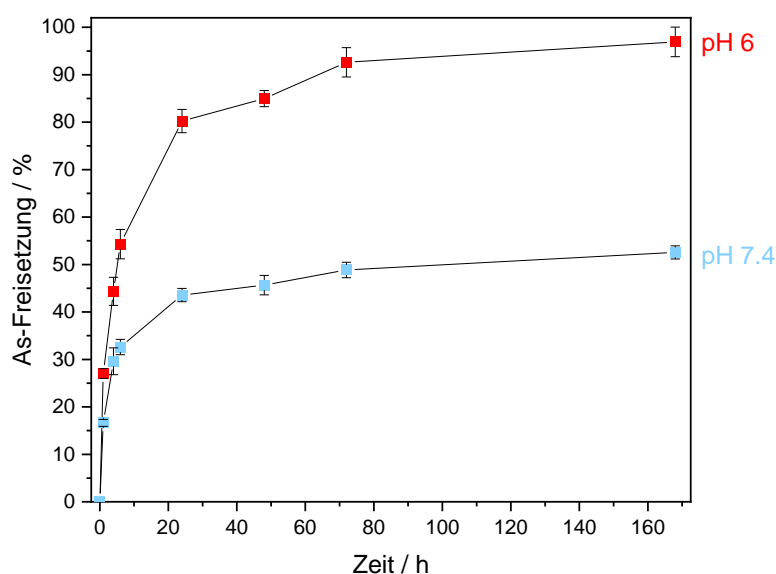


Abbildung 5.45: Arsen-Freisetzung aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 bei pH 6 (rot) und pH 7,4 (hellblau) in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei 37 °C; bestimmt mittels ICP-OES.

Bei einem pH-Wert von 7,4, d.h. einer normalen Gewebeumgebung, wurden 16,6 % Arsen nach 1 h, 43,6 % nach 24 h und maximal 52,6 % nach 168 h freigesetzt. Da die Arsen-Freisetzung hauptsächlich innerhalb der ersten 24 h erfolgte, ist die Wirkstoff-Freisetzung in den ersten Stunden vermutlich aber nicht auf die Netzwerk-Zersetzung, sondern hauptsächlich auf den teilweisen Zerfall der Struktur vom Kern-Schale-Typ zurückzuführen. Um diese Hypothese zu bestätigen, wurde das Trägermaterial zu Beginn der Freisetzung (nach 4 h), zu Beginn des Freisetzungs-Plateaus (nach 24 h) und am Ende der Freisetzungsstudien (nach 168 h) durch XRPD- (**Abbildung E7**), FT-IR- (**Abbildung E8**) und STEM-Analysen analysiert.

Die Ergebnisse von XRPD und FT-IR zeigten eindeutig, dass die der ZIF-8-Schale entsprechenden Intensitäten während der Freisetzungsstudien progressiv abnahmen und

nach den Freisetzungsstudien bei pH 7,4 fast vollständig verschwanden. Im XRPD konnte nach 168 h nur noch Fe_3O_4 nachgewiesen werden. Im entsprechenden FT-IR-Spektrum wurden neben Fe_3O_4 einige neue Banden beobachtet, die dem absorbierten Phosphat aus der phosphatgepufferten Kochsalzlösung zugeordnet werden können (**Abbildung E7** und **Abbildung E8**). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die ZIF-8-Schale während der Freisetzungsstudien nicht stabil ist. Allerdings betrug die Gesamtmenge an Zink, die an die phosphatgepufferte Kochsalzlösung abgegeben wurde, weniger als 1 % (**Abbildung E5** und **Tabelle E3**) und da keine Bildung von Zinksalzen durch XRPD beobachtet wurde, resultiert die verringerte Signalintensität von ZIF-8 höchstwahrscheinlich aus einer fortschreitenden Amorphisierung des Netzwerkes.

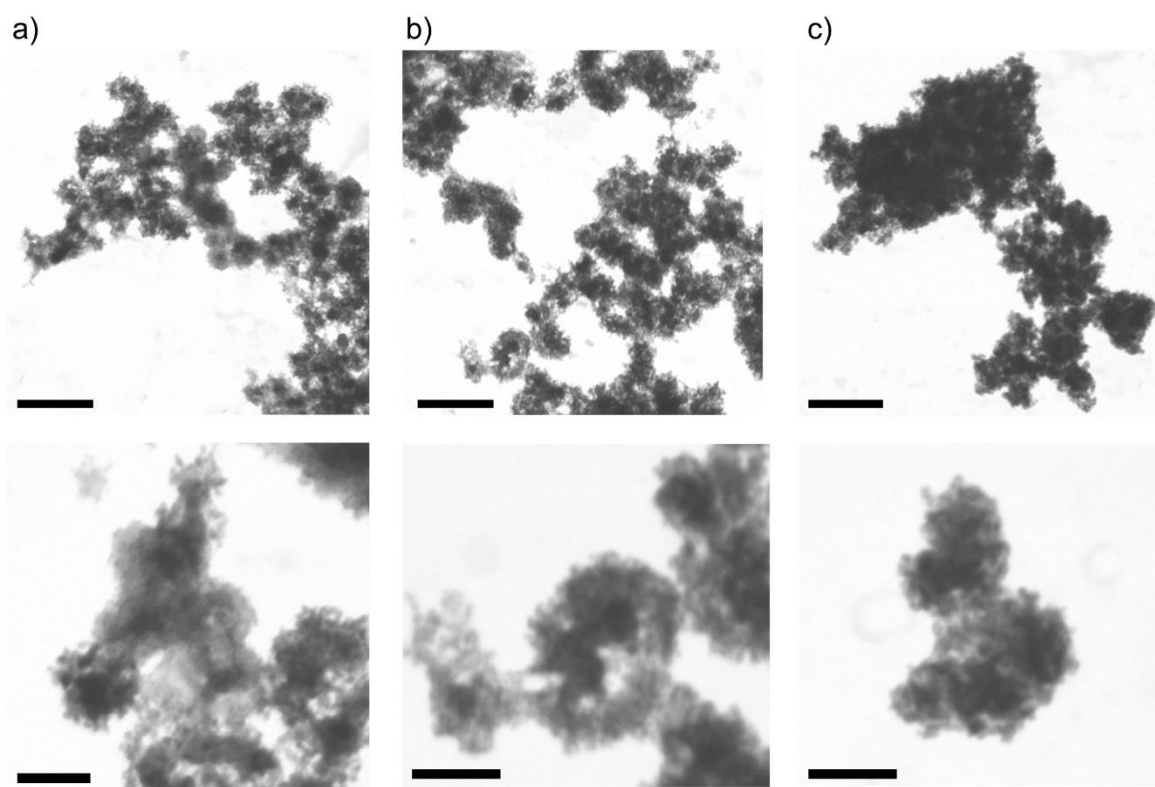


Abbildung 5.46: STEM-Aufnahmen von $\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$ nach (a) 4 h, (b) 24 h und (c) 168 h in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 7,4; Maßstabsbalken: 300 nm (oben), 100 nm (unten).

Darüber hinaus wurde durch die Analyse mit dem STEM das Verhalten der Kern-Schale-Nanopartikel während der Freisetzungsstudien bei pH 7,4 weiter aufgeklärt: Nach 4 h kollabierte die relativ dichte ZIF-8-Schale der Kern-Schale-Nanopartikel zu lose gebundenen Nanopartikeln um den Fe_3O_4 -Kern mit einer mittleren Partikelgröße von $15,8 \pm 3,5$ nm (**Abbildung 5.46**). Diese blieben im weiteren Verlauf der Freisetzungsstudien jedoch unverändert und zersetzten sich nicht weiter. Vermutlich ist also die signifikant höhere äußere Oberfläche dieser kleinen arsenhaltigen ZIF-8 Nanopartikel, die folglich der

phosphatgepufferten Kochsalzlösung ausgesetzt war, der Grund für die erhöhte Arsen-Freisetzung innerhalb der ersten Stunden der Freisetzungsstudien. Nach der Freisetzung des Wirkstoffes im Oberflächenniveau des Trägermaterials nahm die Arsen-Freisetzung aufgrund der Materialamorphisierung nicht weiter zu.

Bei pH 6, d.h. einem tumorösen Gewebeumfeld, wurde ein unterschiedliches Verhalten der Kern-Schale-Nanopartikel im Vergleich zu pH 7,4 festgestellt. Bei pH 6 (tumoröses Gewebeumfeld) waren nach 1 h bereits 27,2 % des Arsens freigesetzt, nach 24 h 80,2 % und nach 168 h konnte die gesamte Menge des ursprünglich beladenen Arsens in der Lösung nachgewiesen werden. Diese vollständige Arsen-Freisetzung (im Vergleich zur Freisetzung bei pH 7,4) wurde durch die gesamte Netzwerk-Zersetzung der ZIF-8-Schale bei pH 6 verursacht, die von einer fortschreitenden Bildung von NaZn(PO₄)·4H₂O aus den freigesetzten Zinkionen und Phosphatanionen der phosphatgepufferten Kochsalzlösung begleitet wurde.

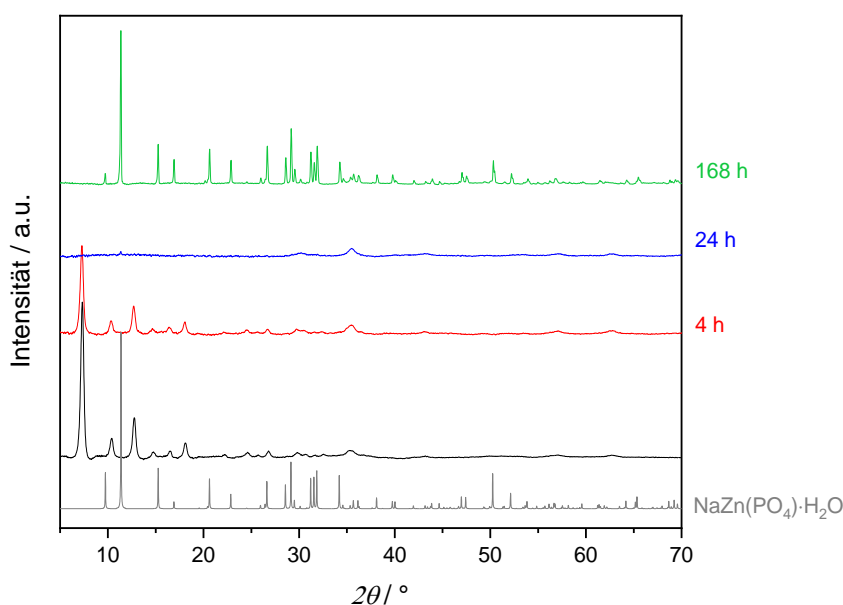


Abbildung 5.47: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 4 h (rot), 24 h (blau) und 168 h (grün) durchgeführt wurden und das berechnete Röntgenpulverdiffraktogramm von NaZn(PO₄)·H₂O (grau, CSD: 81368).

Auch bei pH 6 konnten die XRPD-, FT-IR- und STEM-Analysen des Trägermaterials nach 4 h, 24 h und 168 h der Freisetzungsstudien (**Abbildung 5.47**, **Abbildung E9** und **Abbildung E10**) diese Befunde verifizieren: Im Anfangsstadium der Freisetzungsstudien wurde derselbe partielle Zerfall der Kern-Schale-Nanopartikel wie bei pH 7,4 festgestellt,

aber im Falle von pH 6 folgte auf den Kollaps der anschließende ZIF-8-Netzwerk-Zerfall (anders als bei pH 7,4) und die Bildung von $\text{NaZn}(\text{PO}_4) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Für eine zusätzliche Bewertung der Stabilität des Fe_3O_4 -Kerns wurde auch die Eisen-Menge während der Freisetzungsstudien bei pH 6 und pH 7,4 ermittelt (**Abbildung E6** und **Tabelle E4**). Bei beiden pH-Werten lag die nachgewiesene Eisen-Menge während der gesamten Freisetzungsstudien unter 1 %, was bestätigt, dass der Fe_3O_4 -Kern während der Freisetzungsstudien überhaupt nicht beeinträchtigt wurde.

Obwohl die Kern-Schale-Nanopartikel in phosphatgepufferter Kochsalzlösung teilweise zerfallen, was die damit verbundene Arsen-Freisetzung teilweise verstärkte, zeigten die $\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$ Nanopartikel dennoch eine deutliche pH-gesteuerte Arsen-Freisetzung. Die Studien zeigten eindeutig, dass Arsen bei leicht sauren Bedingungen viel schneller freigesetzt werden konnte als bei pH 7,4. Dies ist ein sehr wichtiger Aspekt, wenn man beabsichtigt, die Kern-Schale-Nanopartikel als Krebs-Theragnostika einzusetzen. Ein solches Material könnte den Wirkstoff unter den physiologischen Bedingungen von gesundem Gewebe in den Poren halten, während er in der saureren Mikroumgebung von Krebsgeweben rasch freigesetzt wird. Um diese Hypothese zu bestätigen, wurde die zytotoxische Wirkung von arsenfreien und arsenhaltigen Trägermaterialien auf Fibroblasten und ausgewählte Krebszelllinien *in vitro* analysiert.

5.7.7. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Für die Bewertung der zytotoxischen Effekte der präparierten Kern-Schale-Trägermaterialien wurden sowohl arsenfreie ($\text{PEG-NH}_2@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$) als auch arsenhaltige Nanopartikel ($\text{PEG-NH}_2@As@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$) analysiert. Dabei wählten wir Fibroblasten als nicht-tumoröse Zellen und zwei verschiedene ATRT-Zelllinien, namens BT12 und BT16, von denen bekannt ist, dass sie positiv auf die ATO-Behandlung ansprechen,^[152] aus und inkubierten sie mit den Nanopartikelkomponenten in einem Konzentrationsbereich von 0,0001 - 100 μM für 24 h und 72 h. Die Menge der verabreichten Substanzen wurde im Hinblick auf die konstante As- oder Zn-Menge berechnet (**Tabelle E5**). Nach der Inkubationszeit wurde die Zellviabilität mit einem MTT-Test gemessen.^[144]

Die Behandlung von Fibroblasten mit dem arsenfreien Trägermaterial ($\text{PEG-NH}_2@Fe_3O_4\text{-ZIF-8}$) zeigte, dass seine zytotoxische Wirkung bei Konzentrationen kleiner oder gleich 10 μM vernachlässigbar ist (**Abbildung E11**). Bei höheren Konzentrationen nahm die Zellviabilität signifikant ab. Diese Ergebnisse stimmen mit den Daten überein, die für ZIF-8 Nanopartikel (ohne Fe_3O_4 -Kern) berichtet wurden, und bestätigen somit, dass der Fe_3O_4 -Kern die Zellviabilität nicht negativ beeinflusste.^[181] Im nächsten Schritt analysierten wir die Zellviabilität von Fibroblasten, die mit den arsenhaltigen Nanopartikeln PEG-

NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 behandelt wurden, nach 24 h und 72 h (**Abbildung E11**). Bei Konzentrationen bis zu 1 µM war die Zellviabilität der Fibroblasten nach 72 h Inkubation ähnlich oder nur geringfügig niedriger als die von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8. Bei Konzentrationen höher oder gleich 10 µM nahm die Zellviabilität jedoch merklich ab. Wie in den Stabilitätsstudien gezeigt wurde, kollabierten die Kern-Schale-Nanopartikel bei pH 7,4 (Bedingungen von normalem Gewebe, d.h. Fibroblasten) innerhalb der ersten 24 h teilweise und setzten folglich Arsen frei. Dieser Kollaps spiegelt sich höchstwahrscheinlich in der verminderten Zellviabilität der Fibroblasten bei hohen verabreichten Konzentrationen wider. Alles in allem zeigten die Zytotoxizitätsstudien mit Fibroblasten, dass das Trägermaterial selbst in der Mikroumgebung der Fibroblasten harmlos ist und dass das arsenhaltige Trägermaterial zwar eine toxische Wirkung hat – dies aufgrund der partiellen Arsen-Freisetzung jedoch nur in höheren Konzentrationen.

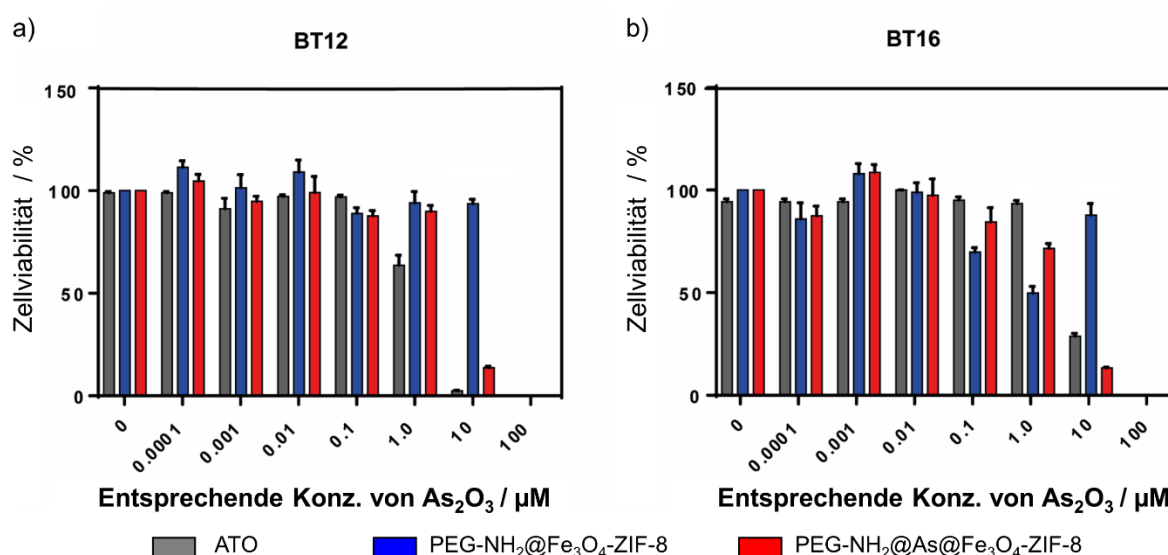


Abbildung 5.48: Zellviabilität von (a) BT12- und (b) BT16-Zellen nach 72 h Inkubation mit steigenden Konzentrationen von ATO (grau), PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (blau) und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot). Die angegebene Konzentration entspricht der Konzentration von As₂O₃ (0 - 100 µM), die effektiv beladen wurde oder theoretisch beladen werden könnte (Details siehe **Tabelle E5**). Die Daten werden als Mittelwert ± S.E.M. dargestellt (n ≥ 3).

Im Anschluss an die Studien mit Fibroblasten wurde die Reaktion der ATRT-Zelllinien BT12 und BT16 auf das Trägermaterial mit und ohne arsenhaltigen Wirkstoff untersucht. Die Ergebnisse von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 zeigten keine zytotoxischen Effekte nach 24 h für Konzentrationen unter 100 µM auf BT12- und BT16-Zellen (**Abbildung E12**). Bei der höchsten Konzentration, 100 µM, nahm die Zellviabilität jedoch signifikant ab. Nach 72 h (**Abbildung 5.48a und b**) wurden für BT12- und BT16-Zellen die gleichen Ergebnisse erzielt – auch wenn die Zellviabilität von BT16-Zellen bei Konzentrationen unter 1 µM leicht instabil

war. Im Vergleich zu den arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln wurde bereits nach 24 h ein deutlicher zytotoxischer Effekt der arsenhaltigen Nanopartikel (PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8) bei Konzentrationen über 1 µM beobachtet (**Abbildung E12**). Dabei war die zytotoxische Wirkung von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 bei BT12-Zellen etwas ausgeprägter als bei BT16. Diese Tendenz bestätigte sich nach 72 h, da die Zellviabilität bei Konzentrationen von mehr als 1 µM in beiden Zelllinien dramatisch abnahm (**Abbildung 5.48a** und **b**). Der Vergleich der Werte der mittleren inhibitorischen Konzentration (IC₅₀-Wert) in **Tabelle 5.6** zeigt, dass die spezifische Wirkung des arsenhaltigen PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 auf beide Krebszelllinien mehr als 8-mal höher ist als die Wirkung des Nanopartikels selbst.

Tabelle 5.6: Mittlere inhibitorische Konzentration (IC₅₀-Wert) für arsenfreie PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und arsenhaltige PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikel nach 72 h.

ATRT Zelllinie	IC ₅₀ -Wert nach 72 h / µM	
	PEG-NH ₂ @Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	PEG-NH ₂ @As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8
BT12	28,0	3,3
BT16	20,5	2,0

Zuletzt wurde die zytotoxische Wirkung der arsenhaltigen Nanopartikel mit dem Effekt, der durch freies ATO nach 24 h (**Abbildung E12**) und 72 h (**Abbildung 5.48a** und **b**) verursacht wird, verglichen. Insgesamt waren deren zytotoxische Effekte vergleichbar. Bei Konzentrationen von mehr als 1 µM war die zytotoxische Wirkung von ATO auf BT12 höher als die durch arsenhaltige Nanopartikel verursachte Wirkung (**Abbildung 5.48a**). Im Fall von BT16-Zellen (**Abbildung 5.48b**) verursachte ATO jedoch eine etwas geringere zytotoxische Wirkung als die arsenhaltigen Nanopartikel (**Abbildung 5.48b**).

Zusammenfassend zeigten die Zytotoxizitätsstudien, dass die arsenfreien Nanopartikel (PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8) keine spezifische zytotoxische Wirkung auf nicht-tumoröses Gewebe (Fibroblasten) oder auf tumoröses Gewebe (BT12- und BT16-Zelllinien) verursachten. Im Gegenteil dazu verursachten die arsenhaltigen Nanopartikel (PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8) eine beträchtliche Zytotoxizität in den rhabdoiden Tumorzelllinien und auch eine beobachtbare Zytotoxizität in Fibroblasten – glücklicherweise jedoch nur, wenn höhere Konzentrationen verwendet wurden. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Studien zur Wirkstoff-Freisetzung und Materialstabilität ist dies vermutlich auf den MOF-Abbau bei niedrigeren pH-Werten zurückzuführen, infolgedessen eine vollständige Arsen-Freisetzung stattfindet.

5.7.8. Magnetische Charakterisierung der Kern-Schale-Nanopartikel und *in vitro* Magnetresonanztomographie

Um zu überprüfen, ob die Kern-Schale-Nanopartikel superparamagnetische Eigenschaften aufweisen und damit die Anforderungen als MRT-Kontrastmittel erfüllen, wurden ihre magnetischen Eigenschaften mit einem SQUID-Magnetometer bei Raumtemperatur analysiert. Dazu wurde die Magnetisierungskurve $M(H)$ der arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8-Nanopartikel in Abhängigkeit vom externen Magnetfeld H aufgenommen und mit der Magnetisierungskurve der Fe₃O₄-Nanocluster verglichen (**Abbildung 5.49**).

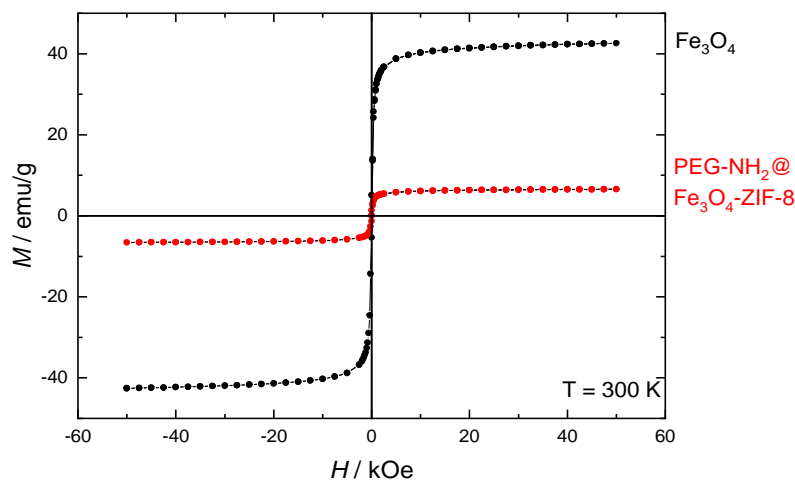


Abbildung 5.49: Magnetisierungskurven $M(H)$ von Fe₃O₄ (schwarz) und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot), gemessen bei 300 K.

Für beide Proben nähert sich die Magnetisierung, ausgehend von $M = 0$ bei $H = 0$ bei steigendem Feld, bereits oberhalb von 5 kOe der Sättigung, kehrt bei abnehmendem Feld ohne jegliche Hysterese-Effekte auf Null zurück und zeigt analoges Verhalten für das inverse Magnetfeld. Die Sättigungsmagnetisierung der PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel nahm im Vergleich zu den Fe₃O₄-Nanoclustern von 42,6 emu/g auf 6,6 emu/g ab. Diese Abnahme der Magnetisierung (ausgedrückt in emu/g) kann auf die Zunahme der Gesamtmaterialmasse bei PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 im Vergleich zu den Fe₃O₄-Nanoclustern zurückgeführt werden. Dieses Ergebnis stimmt gut mit den berichteten Daten für ähnliche Materialien wie Fe₃O₄ und ZIF-8/Zellulose/Fe₃O₄-Nanokompositen überein.^[194,195] Da auch die PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikel in Abwesenheit eines externen Magnetfeldes keine Magnetisierung und keine Hysterese-Effekte zeigten, konnte ihr superparamagnetisches Verhalten verifiziert werden. Daher konnten weitere Analysen mit den Fe₃O₄-Nanoclustern, den arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln und den arsenhaltigen PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln mittels *in vitro* Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt werden.

Für die Untersuchung der Eignung der Kern-Schale-Trägermaterialien als MRT-Kontrastmittel wurden die Proben in Bezug auf äquivalente Eisen-Mengen eingewogen, in 2 mL demineralisiertem Wasser verdünnt und Proben in einen Eisen-Konzentrationsbereich von 0,1 - 1,5 mM hergestellt. Zu diesen Proben wurde eine 1%iger Agarlösung gemischt, um ihre Sedimentation zu verhindern. In den sogenannten Phantomen wurden im Anschluss T_1 - und T_2 -gewichtete MR-Bilder aufgenommen, sodass der fraktionale Signalverlust (FSL), das Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) und das Kontrast-Rausch-Verhältnis (CNR) ermittelt werden konnte. Dabei waren die Phantome bei allen Eisen-Konzentrationen sowohl in T_1 - als auch in T_2 -gewichteten MR-Bildern als hypointense Regionen sichtbar (**Abbildung 5.50**).

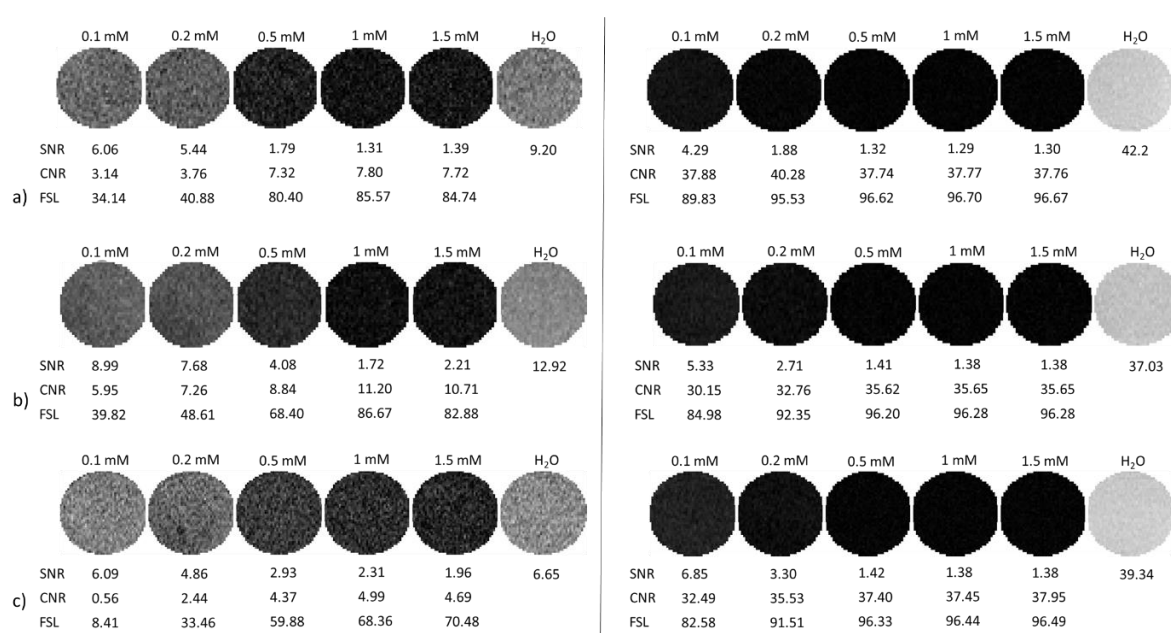


Abbildung 5.50: T_1 - und T_2 -gewichtete MR-Bilder von Phantomen mit (a) Fe_3O_4 Nanoclustern, (b) arsenfreien $PEG-NH_2@Fe_3O_4-ZIF-8$ Nanopartikeln und (c) arsenhaltigen $PEG-NH_2@As@Fe_3O_4-ZIF-8$ -Nanopartikeln mit unterschiedlichen Eisen-Konzentrationen (0,1 - 1,5 mM). Entsprechende SNR-, CNR- und FSL-Werte für gegebene Phantome werden gezeigt.

Bei den Fe_3O_4 -Nanoclustern betrug der fraktionale Signalverlust bei der niedrigsten Konzentration 34,14/89,83 % (T_1/T_2 -gewichtetes MRT) und bei der höchsten Konzentration 84,74/96,67 %. Das Kontrast-Rausch-Verhältnis für diese Probe betrug für die niedrigste Konzentration 3,14/37,88 und 7,72/37,76 für die höchste Konzentration (**Abbildung 5.50a**). Für die arsenfreien $PEG-NH_2@Fe_3O_4-ZIF-8$ Nanopartikel betrug der berechnete FSL 39,82/84,98 % für ein Konzentration von 0,1 mM und 82,88/96,28 % für 1,5 mM Proben mit einem CNR von 5,95/30,15 bzw. 10,71/35 (**Abbildung 5.50b**). Die arsenhaltigen $PEG-NH_2@As@Fe_3O_4-ZIF-8$ Nanopartikel erreichten den geringsten Signalverlust sowohl in T_1 -

als auch in T_2 -MR-Bildern bei einer niedrigen Konzentration mit einem FSL von 8,41/82,58 % und bei einer 1,5 mM-Konzentration von 70,48/96,49 %. Die CNR für die arsenhaltigen Nanopartikel betrug für die niedrige Konzentration 0,56/32,49 und für die hohe Konzentration 4,69/37,95 (**Abbildung 5.50c**).

Darüber hinaus wurden die Relaxationszeiten T_1 und T_2 der Fe₃O₄-Nanocluster, der arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und der arsenhaltigen PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln im Eisen-Konzentrationsbereich von 0,1 - 1,5 mM verglichen. Die berechneten Verhältnisse r_1 , r_2 und r_2/r_1 sind in **Tabelle 5.7** zusammengefasst. Das resultierende r_2/r_1 -Verhältnis der Fe₃O₄-Nanocluster beträgt 48,51 und daher werden diese als "negatives" Kontrastmittel bezeichnet.^[196] Diese Ergebnisse stimmen sowohl mit den SQUID-Experimenten als auch mit dem MR-Bildgebungsexperiment überein, bei denen ein starker Signalabfall, insbesondere in T_2 -gewichteten MR-Bildern, beobachtet wurde. Die arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und die arsenhaltigen PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikel wiesen ein r_2/r_1 -Verhältnis von 10,67 bzw. 12,39 auf und lieferten damit ebenfalls einen sehr guten MR-Kontrast (**Abbildung 5.50**).

Tabelle 5.7: Relaxometrische Eigenschaften von Fe₃O₄-Nanoclustern, arsenfreien PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln und arsenhaltigen PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 Nanopartikeln, gemessen bei 1,5 T und 37°C.

	r_1 [mM ⁻¹ s ⁻¹]	r_2 [mM ⁻¹ s ⁻¹]	r_2/r_1
Fe ₃ O ₄	3,11	150,70	48,51
PEG-NH ₂ @Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	2,37	25,25	10,67
PEG-NH ₂ @As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	0,76	9,46	12,39

5.8. Vergleich der verschiedenen Drug Delivery Systeme

Im Folgenden werden die verschiedenen, im Rahmen dieser Dissertation hergestellten MOF-basierten Trägermaterialien in Bezug auf verschiedene Aspekte miteinander verglichen: Ihre Arsen-Beladungskonzepte und die daraus resultierenden Arsen-Beladungskapazitäten, ihr Arsen-Freisetzungsverhalten und ihre zytotoxische Wirkung. Zudem werden die daraus resultierenden Vor- und Nachteile der verschiedenen Aspekte beleuchtet.

5.8.1. Vergleich der Arsen-Beladung

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei verschiedene Zn-basierte MOFs als Modellbeispiele für den Transport von arsenhaltigen Wirkstoffen untersucht. Nachdem die Absicht verfolgt wurde die unterschiedlichen MOF-Netzwerke dabei durch die Beladung mit einem arsenhaltigen Wirkstoff zu modifizieren, war es unerlässlich zunächst die Besonderheiten des jeweiligen MOF-Netzwerkes genau zu untersuchen. Auf der Grundlage der einzigartigen strukturellen Merkmale der jeweiligen MOFs wurde für jedes MOF-Netzwerk ein geeignetes Beladungskonzept entwickelt (**Tabelle 5.8**), bei dem der arsenhaltige Wirkstoff postsynthetisch über eine koordinative Bindung an das Netzwerk gebunden werden sollte.

Tabelle 5.8: Vergleich der Beladungskonzepte und -kapazitäten im Bezug auf die zugänglichen Metallzentren der jeweiligen MOF-basierten Wirkstoff-Trägermaterialien.

Trägermaterial	Arsen-Beladungskonzept	As ₂ O ₃ -Menge (mg pro 1 g)	Beladungs-kapazität (%)
MFU-4l	Seitenligandenaustausch durch H₂AsO₃⁻	237	90,5 ± 4,5
Zn-MOF-74	Bindung von H₃AsO₃ an Metallzentrum	153	29,0 ± 4,5
ZIF-8	Ligandenaustausch durch H₂AsO₃⁻	98	–
Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	Ligandenaustausch durch H₂AsO₃	70	–

Da **MFU-4l**, **Zn-MOF-74** und **ZIF-8** in Nanoskala synthetisiert werden konnten und eine geeignete chemische Stabilität in verschiedenen Mikroumgebungen (pH 6 und pH 7,4) aufwiesen, wurde bei der Entwicklung der Beladungskonzepte darauf geachtet möglichst

milde Beladungsbedingungen zu schaffen. Denn nur so konnte sichergestellt werden, dass das MOF-Netzwerk lediglich modifiziert wird, ohne bei der Beladung negativ beeinflusst zu werden. Um die effektivste Arsen-Beladung der verschiedenen MOF-Netzwerke zu gewährleisten, wurden die MOF-Nanopartikel bei allen Verfahren lediglich in einer frisch hergestellten Arsenlösung dispergiert und ohne Rühren für eine definierte Zeit bei Raumtemperatur gehalten. Folglich konnten mehrere Parameter des Beladungskonzeptes im Hinblick auf ein optimales Beladungsergebniss für jedes MOF-Netzwerk abgestimmt werden: Die Arsenlösung selbst – d.h. das Lösungsmittel, der pH-Wert und die Arsen-Konzentration, die Menge der MOF-Nanopartikel pro Mililiter Arsenlösung und die Beladungsdauer.

Die optimalen Beladungsbedingungen für alle untersuchten MOF-basierten Wirkstoff-Trägermaterialien sind in **Tabelle 5.9** zusammengefasst.

Tabelle 5.9: Vergleich der Beladungsparameter der verschiedenen MOF-basierten Trägermaterialien.

	Löse- mittel	pH Wert	As-Konz. (mM)	MOF-Menge (mg/mL)	Temperatur	Zeit (h)
MFU-4l	MeOH	–	100	10	RT	0,5
Zn-MOF-74	H ₂ O	6	7,7	1	RT	1,5
ZIF-8	H ₂ O	7	7,7	2	RT	18
Fe ₃ O ₄ -ZIF-8	H ₂ O	7	2,6	1,9	RT	2,5

Im Falle von **MFU-4l** wurde ein Seitenligandenaustausch der Chlorid-Anionen der MOF-Struktur durch Arsenit angestrebt. Die Struktur beinhaltet zwei verschieden große Poren mit 12 Å und 18,6 Å, sodass die Chlorid-Anionen extrem gut zugänglich sind. Folglich konnte eine recht simple Strategie für den Seitenligandenaustausch gewählt werden: Eine große Menge an Nanopartikeln wurde in einem unkritischen Lösemittel mit einer hohen Konzentration an Arsenit-Anionen dispergiert, sodass ein zügiger Austausch stattfinden konnte. Methanol wurde als ein für das MFU-4l Netzwerk unschädliches Lösungsmittel verwendet und eine hochkonzentrierte Arsenlösung von 100 mM hergestellt. Aufgrund dieser hohen Konzentration konnte eine relativ hohe Menge der MFU-4l/Nanopartikeln von 10 mg pro mL in einer relativ kurzen Zeit von nur 30 min beladen werden. Die EDX-Spektroskopie und die ICP-OES-Analyse haben verifiziert, dass mit diesen Beladungsparametern tatsächlich 95 % bzw. 86 % der Beladungskapazität erreicht werden

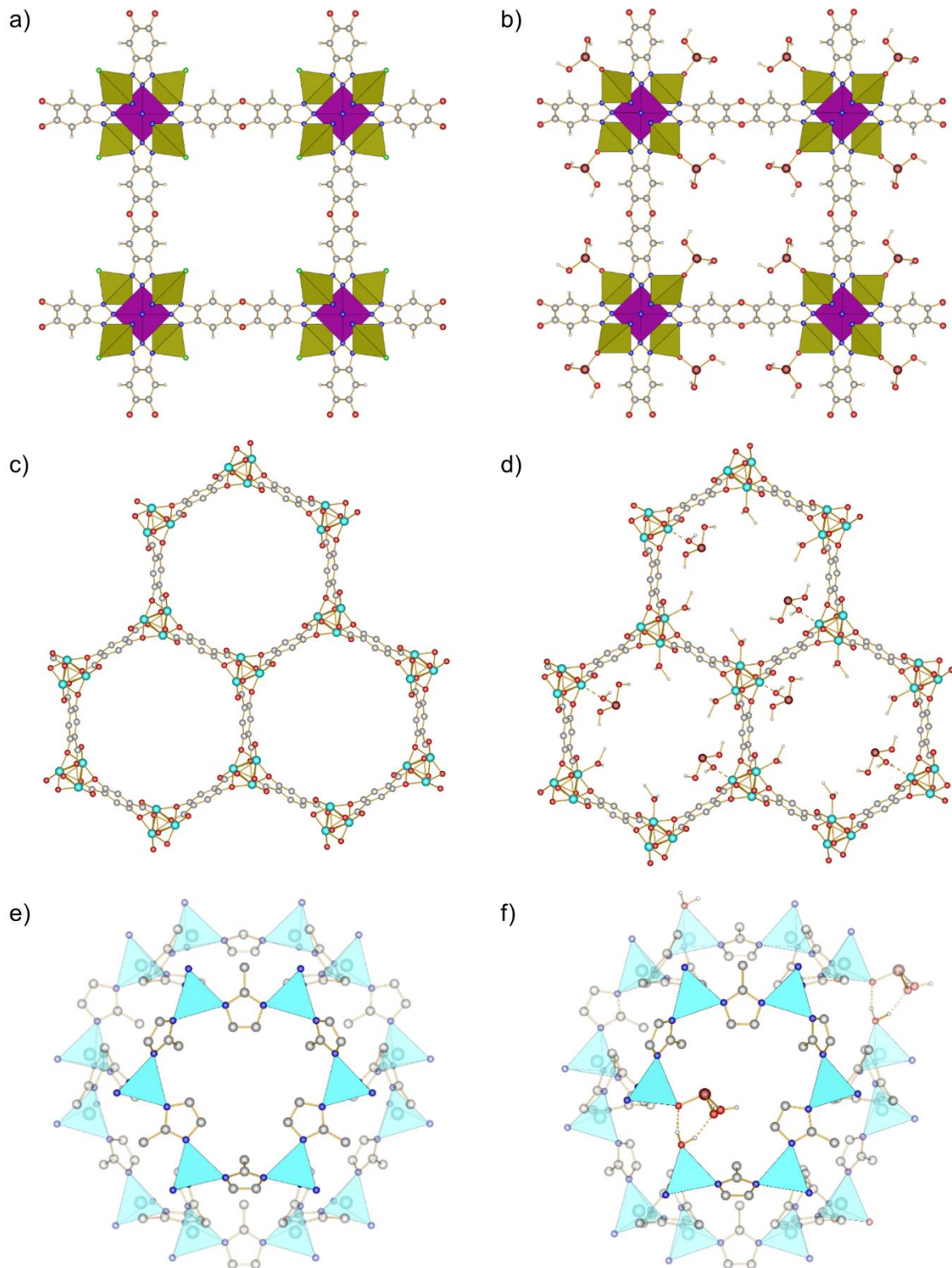


Abbildung 5.51: Vergleich der Kristallstrukturen der verschiedenen MOF-Nanopartikel vor und nach der Arsen-Beladung: (a) arsenfreies und (b) arsenhaltiges MFU-4l, (c) arsenfreies und (d) arsenhaltiges Zn-MOF-74 und (e) arsenfreies und (f) arsenhaltiges ZIF-8.

konnten (**Tabelle 5.8**). Folglich waren die gewählten Bedingungen optimal, um MFU-4l effektiv als Trägermaterial von ATO zu nutzen (**Abbildung 5.51a und b**).

Für **Zn-MOF-74** wurde im Vergleich zu MFU-4l ein sehr unterschiedliches Arsen-Beladungskonzept entwickelt. Da sich Zn-MOF-74 bei einem in der Literatur bekannten Konzept zur Aufreinigung von arsenhaltigem Wasser bei einem pH-Wert von 6 als besonders effizient erwiesen hat,^[177] war dies auch das zentrale Merkmal der Arsen-Beladung. Daher wurde zunächst – anders als bei MFU-4l – eine wässrige Arsenlösung hergestellt und mit Hilfe von HCl auf pH 6 justiert. Somit lag der Großteil der As(III)-Spezies in Form von neutralem H_3AsO_3 vor – und nicht in Form von Arsenit-Anionen. Außerdem wurde im Gegensatz zum Beladungskonzept von MFU-4l nur mit einer recht moderaten Arsen-Konzentration von 7.7 mM und mit einer relativ geringen Menge Zn-MOF-74 von 1 mg pro mL gearbeitet. Dadurch konnte zwar jegliche Beschädigung des MOF-Netzwerkes während der Beladung vermieden werden, doch gleichzeitig musste die Beladungsdauer erhöht werden. Da die Struktur von Zn-MOF-74 auch gut zugängliche 1D-Kanäle mit einem recht großen Durchmesser von 14 Å aufweist, haben sich 90 min als ausreichend erwiesen. Erfreulicherweise wurde die Struktur von Zn-MOF-74 mit diesen milden Beladungsparametern tatsächlich nicht beschädigt, sondern nur modifiziert. Dennoch fällt beim Vergleich zur ausgezeichneten Beladungskapazität von MFU-4l auf, dass nur eine maximale Beladung von 29 % der zugänglichen Metallzentren erreicht werden konnte (**Tabelle 5.8**). Diese verhältnismäßig geringe Beladungskapazität konnte eindeutig durch diejenigen H_2O -Moleküle aus der wässrigen Arsenlösung erklärt werden, die mit H_3AsO_3 um eine koordinative Bindung zu den zugänglichen Metallzentren konkurrieren (**Abbildung 5.51c und d**). Folglich wäre möglicherweise eine Beladung in einer methanolischen Lösung, wie sie für MFU-4l verwendet wurde, ein vielversprechender Ansatz, um die konkurrierenden H_2O -Moleküle zu umgehen und eine vollständige Beladung der zugänglichen Metallzentren zu erreichen. Vollständig beladenes Zn-MOF-74 könnte theoretisch 528 mg As_2O_3 pro 1 g Trägermaterial aufnehmen und wäre damit in der Lage mehr als doppelt so viel Arsen wie MFU-4l zu transportieren – dessen ATO-Beladungskapazität den bisherigen Maximalwert darstellt. Daher wäre Zn-MOF-74 im Falle einer vollständigen Beladung sogar das Trägermaterial mit der höchsten in der Literatur berichteten Arsen-Beladung.

Da **ZIF-8** als neutrales Netzwerk keine direkte Möglichkeit bietet Arsen in die Struktur einzubinden (**Tabelle 5.8**), wurde in diesem Fall ein postsynthetischer Ligandenaustausch angestrebt. Um das ZIF-8 Netzwerk dabei nicht unnötig zu beschädigen, wurde wie bei Zn-MOF-74 eine wässrige Arsenlösung mit einer moderaten Arsen-Konzentration von 7.7 mM hergestellt. Anders als bei Zn-MOF-74, wurde jedoch ein pH-Wert von 7 justiert, da ZIF-8 bei einem neutralem pH-Wert stabil ist, während es sich bei leicht aciden pH-Werten

zersetzt. Für die Beladungsdauer wurde im Vergleich zu den anderen MOF-Strukturen eine äußerst lange Dauer von 18 h gewählt. Dies war neben dem neutralen pH-Wert der wichtigste Parameter für eine erfolgreiche Arsen-Beladung, denn somit konnte der potentielle Ligandenaustausch maximiert werden. Eine Beladung der ZIF-8 Nanopartikel in einer methanolischen Lösung wie bei MFU-4l wurde nicht untersucht, da bei einer derartigen Beladung keine Kontrolle über den pH-Wert der Lösung möglich gewesen wäre. Zudem hätten nur stark verdünnte methanolischen Lösungen verwendet werden können, um das Netzwerk möglichst sanft zu beladen. Die Analyse mit verschiedensten Methoden und der Vergleich zu einer simulierten Kristallstruktur von arsenhaltigen ZIF-8 Nanopartikeln haben bestätigt, dass eine Beladung mit Arsenit in der Tat auch in einem neutralen Netzwerk wie ZIF-8 möglich ist (**Abbildung 5.51e** und **f**). Eine Beladungskapazität konnte im Falle von ZIF-8 allerdings nicht bestimmt werden, da vorab keine Grundannahme gemacht werden konnte inwieweit ein Ligandenaustausch durch Arsenit möglich sein würde. Auch eine Berechnung auf Grundlage der simulierten Kristallstruktur wäre hierbei nicht zielführend gewesen, da diese auf Basis der experimentellen Daten generiert wurde. Es kann jedoch angenommen werden, dass eine maximale Beladung von ZIF-8 erreicht wurde, denn höhere Arsen-Konzentrationen oder längere Beladungszeiten haben nicht zu einer höheren Beladung, sondern zu einer signifikanten Beeinträchtigung der ZIF-8 Nanopartikel geführt. Dies ist auch unter der Berücksichtigung der Tatsache, dass die Arsen-Beladungen auf einem Ligandenaustausch beruht, nicht verwunderlich. Denn wenn ein zu großer Anteil der organischen Liganden des Netzwerkes durch Arsenit ersetzt wird, dann wird ein Kollaps des 3D-Netzwerkes induziert. Die erhaltene Arsen-Beladung in ZIF-8 entspricht im Vergleich zu MFU-4l und Zn-MOF-74 nur etwa 41 % bzw. 64 % und ist damit deutlich geringer. Dennoch sollte an dieser Stelle nochmals hervorgehoben werden, dass das ZIF-8 Netzwerk keinerlei intrinsische Bindungsmöglichkeiten bereitstellt und die erhaltene Arsen-Beladung daher äußerst erfreulich ist.

Bei der Beladung von **Fe₃O₄-ZIF-8** Kern-Schale-Nanopartikeln wurde im Prinzip analog zu den ZIF-8 Nanopartikel verfahren. Nachdem dieselben Beladungsbedingungen wie bei ZIF-8 jedoch zu beträchtlichen Defekten in der Kern-Schale-Struktur der Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel geführt haben, wurden etwas mildere Bedingungen ausgearbeitet. Dabei wurde die Konzentration der Arsen-Lösung von 7,7 mM auf 2,6 mM verringert und die Beladungsdauer von 18 h auf 2,5 h herabgesetzt um sicherzustellen, dass die Kern-Schale-Struktur der Nanopartikel unversehrt bleibt. Die Bestimmung der Arsen-Beladung durch die ICP-OES-Analyse hat bestätigt, dass im Hinblick auf die simulierte Kristallstruktur von arsenhaltigen ZIF-8 Nanopartikeln, trotz signifikant milderer Beladungsbedingungen ein „vollständiger Ligandenaustausch“ erreicht werden konnte. Dies kann dadurch erklärt

werden, dass die ZIF-8-Schale der Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel im Gegensatz zur durchschnittlichen Partikelgröße von 68 nm der ZIF-8 Nanopartikel nur in etwa 30 nm dick ist. Insgesamt kann man schlussfolgern, dass auch für Fe_3O_4 -ZIF-8 eine optimale Arsen-Beladung erreicht wurde. Im Vergleich zu allen übrigen MOF-basierten ATO-Trägermaterialien weist Fe_3O_4 -ZIF-8 die geringste Arsen-Beladung pro Gramm auf, was aber hauptsächlich auf den Massenanteil der Fe_3O_4 -Kerne zurückgeführt werden kann.

Im Rahmen dieser Arbeit ist es also erstmals erfolgreich gelungen verschiedene Arsen-Beladungsstrategien so gut an die jeweiligen Strukturmerkmale von MFU-4l, Zn-MOF-74, ZIF-8 und Fe_3O_4 -ZIF-8 anzupassen, dass die ersten MOF-basierten Trägermaterialien mit hohen Beladungskapazitäten an arsenhaltigen Wirkstoffen hergestellt werden konnten.

Im Vergleich zu den wenigen in der Literatur untersuchten ATO-Trägermaterialien, wie Liposomen,^[63] magnetischen Polymilchsäure-Hybrid-Nanopartikel,^[65] Polyacrylsäure beschichteten mesoporösen Siliciumdioxid-Nanopartikel (MSN)^[66] und Magnetit-dotierten mesoporösen Siliciumdioxid-Nanopartikeln^[67] (Details siehe **Kapitel 2.2**), konnten mindestens gleich hohe oder sogar deutlich höhere Beladungskapazitäten mit den MOF-basierten Trägermaterialien erzielt werden. Dieser Befund bestätigt, dass sich MOFs hervorragend als Trägermaterial für arsenhaltige Wirkstoff eignen.

Anhand der gesammelten Erfahrungen mit diesen drei Modellbeispielen werden nun abschließend wichtige Aspekte für zukünftige, noch effizientere Arsen-Beladungsstrategien mit anderen MOF-Strukturen abgeleitet. Nachdem allerdings etwa 70.000 MOF-Strukturen in der Literatur erwähnt sind,^[10] stellen diese vermutlich hauptsächlich eine gute Grundlage für eine erfolgreiche postsynthetische Beladung von MOFs mit ähnlichen Strukturmotiven dar. Die tatsächliche Entwicklung der optimalen Arsen-Beladungsstrategie kann allerdings je nach MOF-Struktur auch noch wesentlich komplizierter sein.

Der erste und vermutlich wichtigste Aspekt für eine effektive Arsen-Beladung ist gleichzeitig auch der offensichtlichste: Die postsynthetischen Beladungsbedingungen – sprich das Lösemittel, der pH-Wert der Lösung, die Arsen-Konzentration und die Beladungsdauer – sollten so mild wie möglich gewählt werden, sodass die MOF-Struktur idealerweise keine oder nur eine minimale Beeinträchtigung davonträgt. Denn nur in einem intakten Trägermaterial kann ein sicherer Wirkstoff-Transport gewährleistet werden.

Zudem sollte bei der Beladung von MOFs mit zugänglichen Seitenliganden, die wie bei **MFU-4l** für den Ladungsausgleich der MOF-Struktur verantwortlich sind, unbedingt darauf geachtet werden, dass einerseits nur die passende Arsen-Spezies für den Austausch vorliegen und, dass andererseits koexistente, konkurrierende Anionen, wie beispielsweise Phosphatanionen, möglichst vermieden werden.

Ähnliches gilt für MOFs mit zugänglichen Metallzentren. Auch hier sollte sichergestellt werden, dass keine konkurrierenden Moleküle wie beispielsweise Wasser die effektive Arsen-Beladung verringern – wie es im Fall von **Zn-MOF-74** passiert ist. Daher sollten der optimale pH-Wert sowie das richtige Lösemittel intensiv analysiert werden, sodass schlussendlich die Bindung der Arsen-Spezies während der Beladung die favorisierteste darstellt.

Bei neutralen MOF-Strukturen, wie der von **ZIF-8**, sind vor allem die milden Beladungsbedingungen relevant. Denn um für diese eine optimale Arsen-Beladung beispielsweise durch einen Ligandenaustausch zu erreichen, sind möglichst lange Beladungsdauern essenziell.

5.8.2. Vergleich des Arsen-Freisetzungsverhaltens

Nach der Bestimmung der besten postsynthetischen Beladungsbedingungen war es unerlässlich anschließend die Arsen-Freisetzungskinetik der Trägermaterialien zu analysieren. Schließlich sollte ein geeignetes Wirkstoff-Trägermaterial Arsen nicht nur gut in die Struktur integrieren, sondern dieses bei geeigneten Bedingungen auch wieder freisetzen. Um einen Einblick in diese Kinetik zu ermöglichen, wurden für alle MOF-basierten Trägermaterialien Freisetzungsstudien unter simulierten Körperbedingungen bei 37 °C durchgeführt. Dabei wurde die Mikroumgebung von tumorösem und gesundem Gewebe mit den beiden verschiedenen pH-Werten 6 und pH 7,4 imitiert. Nach der Dispersion der MOF-basierten Trägermaterialien in den phosphatgepufferten Kochsalzlösungen wurde die Menge an freigesetztem Arsen in der Lösung nach einer definierten Zeit mittels ICP-OES bestimmt. Die Ergebnisse dieser Studien aller MOF-basierter Trägermaterialien über den Verlauf von einer Woche, also 168 h, sind in **Abbildung 5.52** zusammengefasst und werden im Folgenden diskutiert.

Im Falle von **MFU-4l** wurde Arsen sowohl für die unbeschichtete als auch die PEG-beschichtete Probe bei beiden pH-Werten recht schnell freigesetzt (**Abbildung 5.52a**). Die Freisetzung kann dabei dem sogenannten „burst effect“ zugeordnet werden, bei dem der Wirkstoff schlagartig aus dem Drug Delivery System austritt.^[197] Binnen 30 min wurde bei den unbeschichteten MFU-4l/Nanopartikeln bei pH 6 bereits etwa 75 % und bei pH 7,4 etwa 60 % freigesetzt und nach 24 h war die Freisetzung mit mehr als 90 % für beide Proben fast vollständig. Für die Proben mit einer PEG-Beschichtung konnte insgesamt derselbe Trend festgestellt werden. Die Arsen-Freisetzung innerhalb der ersten 30 min war jedoch bei beiden pH-Werten um mehr als 20 % niedriger. Nach 24 h wurden nur 90 % bei pH 6 und nur 80 % bei pH 7,4 freigesetzt. Die Arsen-Freisetzung lag jedoch für alle Proben nach 168 h bei mehr als 87 %. Als Ursache dafür sind vermutlich die großen Poren in der Struktur von MFU-4l mit 12 Å und 18,6 Å zu nennen, die binnen kurzer Zeit eine Diffusion der

phosphatgepufferten Kochsalzlösung in das gesamte Nanopartikel-Volumen ermöglichen. Infolgedessen konnten die Arsenit-Anionen zügig durch die Phosphat-Anionen, die in einer sehr hohen Konzentration in der phosphatgepufferten Kochsalzlösung vorhanden sind, ausgetauscht werden. Diese Hypothese wird durch die verbesserte Freisetzungskinetik der PEG-beschichteten Proben untermauert. Da die Diffusion ins Innere der Nanopartikel in deren Fall deutlich gehemmt wurde, konnte eine verlangsamte Arsen-Freisetzung erzielt werden.

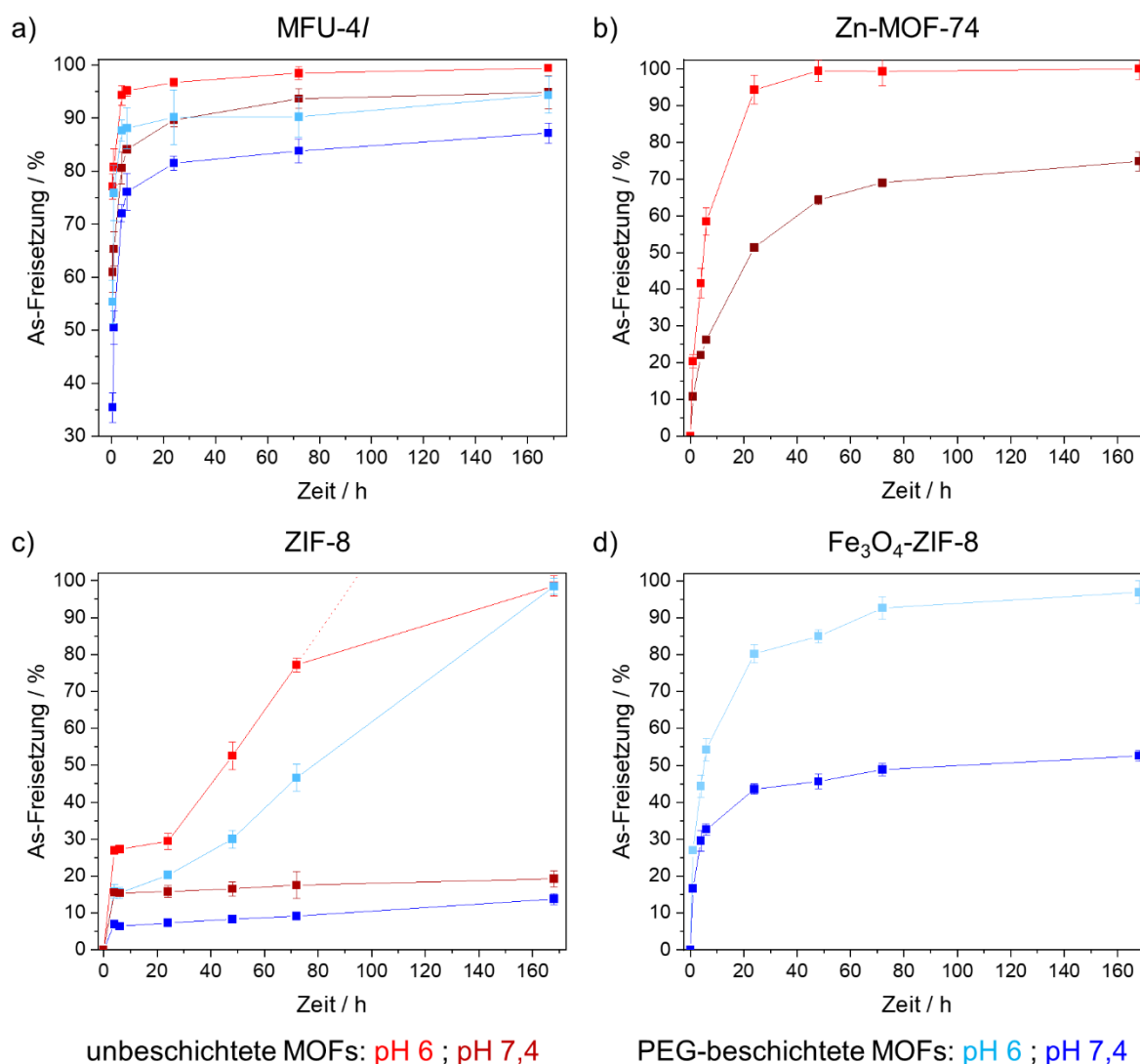


Abbildung 5.52: Arsen-Freisetzung aus den verschiedenen MOF-basierten Trägermaterialien bei pH 6 (unbeschichtet: hellrot; PEG-beschichtet: hellblau) und pH 7,4 (unbeschichtet: dunkelrot; PEG-beschichtet: dunkelblau): (a) MFU-4l, (b) Zn-MOF-74, (c) ZIF-8 und (d) Fe₃O₄-ZIF-8.

Für **Zn-MOF-74** konnte wie auch für MFU-4l eine recht zügige Freisetzung detektiert werden (**Abbildung 5.52b**). Insgesamt war allerdings eine deutlichere pH-Abhängigkeit zu erkennen. Während die Arsen-Freisetzung bei pH 6 nach 24 h mit etwa 94 % der Arsen-

Anfangsmenge fast vollständig war, war die Freisetzung bei pH 7,4 mit nur etwa 51 % signifikant geringer. Auch nach 168 h war die Arsen-Freisetzung mit 71 % bei pH 7,4 nicht komplett. Ähnlich zur MFU-4l Struktur, weist Zn-MOF-74 1D-Kanäle mit einem großen Durchmesser von 14 Å auf, sodass eine rasche Diffusion der phosphatgepufferten Kochsalzlösung in die Nanopartikel stattfinden konnte. Diese hat vor allem bei pH 6 eine zunehmende Zersetzung der Nanopartikel ausgelöst, woraufhin Arsen freigesetzt wurde. Die pH-abhängige Arsen-Freisetzung ist bei Zn-MOF-74 viel deutlicher erkennbar als bei MFU-4l. Die langsamere Diffusionsgeschwindigkeit aufgrund der im Vergleich zu MFU-4l etwas kleineren Porenöffnungen erklärt die langsamere Arsen-Freisetzung zu Beginn der Freisetzungsstudien. Doch gerade im Hinblick auf die nicht abgeschlossene Freisetzung bei pH 7,4 aus Zn-MOF-74, muss es noch einen weiteren Grund für die Unterschiede in der Arsen-Freisetzungskinetik geben. Hierbei spielt vermutlich die Form der integrierten As(III)-Spezies eine Rolle: Bei MFU-4l befinden sich H_2AsO_3^- Anionen zum Ladungsausgleich in der Struktur und bei Zn-MOF-74 sind H_3AsO_3 -Moleküle durch koordinative Bindungen an die zugänglichen Metallzentren gebunden. Die experimentellen Daten deuten darauf hin, dass der Austausch der leichter zugänglichen Arsenit-Anionen durch koexistente Phosphat-Anionen in MFU-4l schneller stattfindet als der Austausch von H_3AsO_3 -Molekülen durch koexistente Lösemittel-Moleküle. Folglich scheint die Integration eines Arsenit-Anions zum Ladungsausgleich weniger geeignet für einen sicheren Wirkstoff-Transport zu sein als die koordinative Bindung neutraler H_3AsO_3 -Moleküle an zugängliche Metallzentren.

Eine Bestätigung der Wichtigkeit der Art der Arsen-Bindung im Netzwerk des MOFs liefert auch der Vergleich zu den Ergebnissen der Arsen-Freisetzung aus **ZIF-8** Nanopartikeln. Denn diese haben sich tatsächlich als das Wirkstoff-Trägermaterial mit dem besten pH-gesteuerten Arsen-Freisetzungsverhalten erwiesen (**Abbildung 5.52c**). Ähnlich wie bei MFU-4l wurden Arsenit-Anionen in das Netzwerk integriert – allerdings nicht zum Ladungsausgleich, sondern anstelle eines organischen Liganden des Netzwerkes. Die ICP-OES-Analyse hat gezeigt, dass dadurch zum ersten Mal eine extrem geringe Arsen-Freisetzung innerhalb der ersten 24 h stattgefunden hat: Die unbeschichteten ZIF-8 Nanopartikel haben bei pH 6 nur etwa 24 % des Arsens nach 24 h freigesetzt, während es bei pH 7,4 sogar nur 16 % waren. Erfreulicherweise wurde der Unterschied zwischen den beiden pH-Werten im Verlauf der Freisetzungsstudien noch deutlicher: Während die Freisetzung bei pH 6 vermutlich in weniger als 100 h abgeschlossen war, wurden bei pH 7,4 nach 168 h lediglich 19,2 % freigesetzt. Ähnlich wie bei MFU-4l, hat eine zusätzliche PEG-NH₂-Beschichtung diesen Trend auch bei den ZIF-8 Nanopartikeln noch weiter untermauert. In diesem Falle wurden bei pH 7,4 nach 168 h nur noch 13,7 % des Arsens freigesetzt. Die Integration des Arsenit-Anions anstelle eines Liganden war also extrem nützlich: Die Arsen-Freisetzung in einer Mikroumgebung von gesundem Gewebe, also bei

pH 7,4, konnte gehemmt werden und gleichzeitig konnte durch die Instabilität des Netzwerkes eine vollständige Freisetzung in einer Mikroumgebung von Tumorgewebe erreicht werden, also bei pH 6. Ein weiterer Faktor, der die Arsen-Freisetzung bei ZIF-8 vermutlich positiv beeinflusst hat, ist die Größe der Poren im Netzwerk. Im Vergleich zu den anderen beiden MOFs besitzt ZIF-8 die kleinsten Poren mit 11,6 Å. Dadurch hat vermutlich die langsamste Diffusion der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ins Innere der Nanopartikel stattgefunden. Zusammenfassend kann man sagen, dass ZIF-8-Netzwerk mit einer geeigneten pH-abhängigen Materialstabilität und kleinen Poren extrem gute Grundvoraussetzungen für ein Wirkstoff-Trägermaterial aufweist. Aufgrund der erfolgreichen Integration des Arsenit-Anions als Ligand in das Netzwerk übertreffen die ZIF-8 Nanopartikel folglich MFU-4l und Zn-MOF-74 deutlich als Wirkstoff-Trägermaterial.

Daher wurden sehr große Hoffnungen in die beschichteten **Fe₃O₄-ZIF-8** Kern-Schale-Nanopartikel für den sicheren Transport arsenhaltiger Wirkstoffe gesetzt. Die Beurteilung ihrer Arsen-Freisetzungskinetik hat jedoch gezeigt, dass diese, trotz derselben äußerst günstigen Grundvoraussetzungen wie sie ZIF-8 Nanopartikel ohne Fe₃O₄-Kern aufweisen, eine etwas schlechtere Leistung erbringen. Bei pH 6 wurde bereits nach 1 h mit etwa 27 % mehr Arsen freigesetzt als es bei den ZIF-8 Nanopartikel ohne Fe₃O₄-Kern nach 24 h der Fall war. Ähnlich wie bei MFU-4l oder Zn-MOF-74 stieg die Arsen-Freisetzung aus Fe₃O₄-ZIF-8 bei pH 6 nach 24 h signifikant auf 80 % an und war nach 168 h abgeschlossen. Auch bei pH 7,4 war eine deutliche Erhöhung der Arsen-Freisetzung von 13 % nach 1 h, 36 % nach 24 h und 39 % nach 168 h im Vergleich zu den ZIF-8 Nanopartikel ohne Fe₃O₄-Kern zu erkennen. Durch zahlreiche Analysen wie XRPD, FT-IR und STEM konnte dieses unerwartete Verhalten der Kern-Schale-Nanopartikel während der Freisetzungsstudien jedoch aufgeklärt: Die relativ dichte ZIF-8-Schale der Kern-Schale-Nanopartikel war zu locker gebundenen, extrem kleinen ZIF-8 Nanopartikeln um den Fe₃O₄-Kern kollabiert. Die daraus resultierenden, kleinen arsenhaltigen ZIF-8 Nanopartikel besitzen im Vergleich zu den ZIF-8 Nanopartikeln ohne Fe₃O₄-Kern eine viel größere externe Oberfläche, die der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ausgesetzt war. Folglich hat die Arsen-Freisetzung aus deren äußersten Schichten zu einem deutlichen Anstieg innerhalb der ersten Stunden der Freisetzungsstudien geführt. Obwohl also die Schale der Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel in der phosphatgepufferten Kochsalzlösung teilweise kollabiert ist, zeigten diese aufgrund ihrer günstigen pH-abhängigen Materialstabilität trotzdem noch eine deutlich bessere pH-gesteuerte Arsen-Freisetzung als MFU-4l und Zn-MOF-74.

In Anbetracht aller Ergebnisse der Arsen-Freisetzungsstudien kann man schlussfolgern, dass vor allem drei Faktoren die pH-gesteuerte Freisetzung beeinflusst haben: Die Diffusionsgeschwindigkeit der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ins Innere der MOF-

Nanopartikel, die Art der Bindung zwischen Wirkstoff und MOF-Netzwerk sowie die pH-Stabilität der MOFs.

Dass die Diffusionsgeschwindigkeit direkt mit der Größe der zugänglichen Poren des Netzwerkes korreliert, konnte eindeutig durch die experimentellen Daten der Arsen-Freisetzungsstudien verifiziert werden: Die Arsen-Freisetzung nimmt von MFU-4l (12 Å und 18,6 Å), über Zn-MOF-74 (14 Å) hin zu ZIF-8 (11,6 Å) immer weiter ab. Je mehr die Diffusion ins Innere des Materials durch kleine Porenöffnungen oder PEG-Beschichtungen verlangsamt wurde, desto mehr konnte die Arsen-Freisetzung der Nanopartikel für beide untersuchten pH-Werte gehemmt und reduziert werden. Eine derartige Freisetzungskinetik ist in guter Übereinstimmung mit Daten aus der Literatur.^[188]

Als zweiter interessanter Aspekt der Arsen-Freisetzung aus MOF-basierten Trägermaterialien konnte die Art der Arsen-Bindung beobachtet werden. So wurde Arsenit, welches in Form eines Seitenliganden zum Ladungsausgleich in das MFU-4l-Netzwerk integriert wurde, rasch durch andere koexistente Anionen ersetzt. Dieser Austausch war leider bei pH 7,4 nur geringfügig langsamer als bei pH 6. Folglich wird eine derartige Integration in ein MOF-Netzwerk als relativ instabil und daher als ungünstig für den Transport arsenhaltiger Wirkstoffe erachtet. Die koordinative Bindung von neutralem H_3AsO_3 an zugängliche Metallzentren, wie im Beispiel von Zn-MOF-74, hat sich dagegen als etwas stabiler gegenüber einem frühzeitigen Austausch durch andere koexistente Moleküle wie Wasser erwiesen. Da die Arsen-Freisetzung hierbei stark mit der pH-abhängigen Material-Zersetzung von Zn-MOF-74 korreliert, scheinen MOFs mit zugänglichen Metallzentren und einer geeigneteren Materialstabilität keine schlechte Wahl für den sicheren Transport von arsenhaltigen Wirkstoffen zu sein. Als noch besser und stabiler hat sich jedoch die Integration von Arsenit als „Grundbaustein des MOF-Netzwerkes“, wie es bei ZIF-8 der Fall war, erwiesen. In diesem Fall wurde bei einem intakten Trägermaterial nur minimale Arsen-Freisetzung beobachtet, während eine komplette Freisetzung des arsenhaltigen Wirkstoffes nach der Zersetzung des Materials erzielt werden konnte. War der arsenhaltige Wirkstoff also ein „Grundbaustein des MOF-Netzwerkes“, so übertraf dessen Arsen-Freisetzungskinetik die übrigen MOFs. Dies wurde hauptsächlich durch eine geeignete pH-Stabilität des Trägermaterials, hier von ZIF-8, gesteuert.

Daher ergab sich als dritter wichtiger Faktor, dass sich MOFs umso besser als Wirkstoff-Trägermaterial eignen, je ausgeprägter deren pH-abhängige Stabilität des Netzwerkes ist. Denn somit war es wie im Fall von ZIF-8 möglich, dass erst die Instabilität des Trägermaterials am Wirkungsort die vollständige Freisetzung des Wirkstoffes initiiert. Folglich ist es essenziell das Trägermaterial so zu wählen, dass dessen pH-abhängige Materialstabilität genau auf den gewünschten pH-Auslöser abgestimmt ist. Bei der

angestrebten Behandlung von Tumorentitäten wie in dieser Arbeit, konnte mit dem Einsatz von ZIF-8 als Trägermaterial beispielsweise der etwas acidere pH-Wert am Wirkungsort im Vergleich zu normalem Gewebe ideal für die Arsen-Freisetzung genutzt werden. Dies ist in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur bekannten Daten anderer pH-sensitiver MOFs wie MIL-100(Fe), MIL-101-NH₂(Fe) oder auch UiO-66(Zr).^[198]

Die hergestellten MOF-basierten Trägermaterialien übertreffen die bisher in der Literatur untersuchten ATO-Trägermaterialien nicht nur im Hinblick auf die Arsen-Beladung, sondern auch im Hinblick auf die Freisetzungskinetik in mehreren Aspekten deutlich. Wie bereits in **Kapitel 2.2** berichtet, ermöglichen diese weder eine gezielte noch eine komplette Freisetzung von ATO. Bei all diesen Trägermaterialien findet die Freisetzung hauptsächlich innerhalb der ersten 24 h statt und stagniert danach. Am Beispiel von Polyacrylsäure beschichteten mesoporösen Siliciumdioxid-Nanopartikel soll dies kurz skizziert werden: Nach 24 h bei pH 6 wurden etwa 55 % und bei pH 7,4 etwa 40 % des Arsens freigesetzt und diese Werte stiegen nach 48 h nur um etwa 5 %.^[66] Damit weisen diese zwar insgesamt eine etwas schnellere Arsen-Freisetzung bei niedrigeren pH-Werten auf, doch diese scheint bereits nach 24 h nach nur etwa der Hälfte des Anfangswertes des eingelagerten ATOs beendet zu sein. Von einer Freisetzung des restlichen ATOs aus dem Trägermaterial wurde nicht berichtet.^[66] Eine derartige Arsen-Freisetzungskinetik ist definitiv nicht optimal für ein effektives Trägermaterial, da eine vollständige Freisetzung des eingelagerten Wirkstoffes absolut erstrebenswert ist.

Alle untersuchten MOF-basierten Trägermaterialien konnten dieses Kriterium erfüllen. Zusätzlich dazu konnte am Beispiel der ZIF-8 Nanopartikel gezeigt werden, dass durch die Wahl des MOF-Netzwerkes auch eine sehr deutliche pH-gesteuerte Freisetzung ermöglicht werden kann. Demnach konnte im Rahmen dieser Disseration bestätigt werden, dass MOFs tatsächlich ein äußerst elegantes Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe darstellen.

5.8.3. Vergleich der Zytotoxizität der verschiedenen Trägermaterialien

Um die Toxizität der verschiedenen MOF-basierten Trägermaterialien beurteilen zu können, wurde deren zytotoxische Wirkung auf einige Zelllinien *in vitro* untersucht. Im Folgenden wird der ermittelte zytotoxische Effekt von arsenfreien und arsenhaltigem MFU-4l (**Kapitel 5.1**), ZIF-8 und Fe₃O₄-ZIF-8 (**Kapitel 5.3** und **5.7**) auf zwei verschiedene ATRT-Zelllinien (BT12 und BT16), die positiv auf eine ATO-Behandlung ansprechen, nach 72 h miteinander verglichen. Nachdem die Menge aller verabreichten Substanzen im Hinblick auf eine festgelegte As- oder Zn-Menge berechnet wurde, konnten die Resultate ihrer mittleren inhibitorischen Konzentrationen (IC₅₀-Wert) nach 72 h in **Tabelle 5.10** zusammengefasst werden.

Allerdings sollte an dieser Stelle erwähnt werden, dass der Vergleich von IC_{50} -Werten in der Literatur häufig als recht problematisch angesehen wird, da deren Bestimmung relativ stark von den genauen Testbedingungen abhängig ist.^[199] Die IC_{50} -Werte zeigen aber für gewöhnlich eine bessere Reproduzierbarkeit und Vergleichbarkeit, wenn sie im selben Labor ermittelt wurden.^[199] Dies ist im Rahmen dieser Arbeit zwar der Fall, doch die durchgeführten Testreihen mit MFU-4l und den beiden ZIF-8 basierten Trägermaterialien (ZIF-8 bzw. Fe_3O_4 -ZIF-8) weisen dennoch Unterschiede auf. Zum einen wurden nicht alle Tests von derselben Person gemacht und zum anderen wurde im Fall von MFU-4l mit einer niedrigeren BT12- bzw. BT16-Zell-Dichte gearbeitet als bei ZIF-8 bzw. Fe_3O_4 -ZIF-8 – nämlich mit nur 3.000 bzw. 2.000 anstatt 8.000 bzw. 4.000. Daher können im Folgenden nur generelle Trends zwischen den unterschiedlichen arsenfreien und arsenhaltigen Trägermaterialien aus den ermittelten IC_{50} -Werten abgeleitet werden.

Nachdem Arsentrioxid (As_2O_3 , ATO) das ursprüngliche Medikament darstellt, werden zudem alle ermittelten zytotoxischen Effekte im Vergleich zu den Resultaten von freiem ATO diskutiert. Dieses stellt eine hochtoxische Substanz dar und daher ist dessen mittlere inhibitorische Konzentration bereits bei einer sehr geringen verabreichten Konzentration von 1,4 μM bzw. 6,1 μM bei BT12- bzw. BT16-Zellen erreicht.

Tabelle 5.10: Vergleich der mittleren inhibitorischen Konzentrationen (IC_{50} -Werte) für die Behandlung verschiedener ATRT-Zelllinien mit arsenfreien und arsenhaltigen MOF-basierten Trägermaterialien nach 72 h.

	IC_{50} -Wert nach 72 h / μM	
	BT12	BT16
MFU-4l	> 80	> 80
ZIF-8	12,5	12,8
PEG-NH ₂ @ Fe_3O_4 -ZIF-8	28,0	20,5
As_2O_3	1,4	6,1
MFU-4l-OAs(OH) ₂	1,5	8,9
As@ZIF-8	2,8	1,7
PEG-NH ₂ @As@ZIF-8	2,4	2,1
PEG-NH ₂ @As@ Fe_3O_4 -ZIF-8	3,3	2,0

Im Gegensatz zu ATO weisen alle arsenfreien Trägermaterialien (MFU-4l, ZIF-8 und PEG-NH₂@ Fe_3O_4 -ZIF-8) für beide Zelllinien einen deutlich höheren IC_{50} -Wert auf. Es kann insgesamt also eine viel höhere Menge an Trägermaterialien verabreicht werden ehe diese

toxisch wirkt. Die ZIF-8 Nanopartikel weisen dabei mit 12,5 μM bzw. 12,8 μM auf BT12- und BT16-Zellen zwar die niedrigsten IC_{50} -Werte auf, doch deren zytotoxische Wirkung ist damit immer noch mindestens um das 9-fache bzw. 2-fache geringer als die von ATO.

Zwar könnten diese bei der Verabreichung von sehr hohen Dosen auch eine mögliche Toxizität verursachen, doch bei den niedrigen therapeutischen Dosen sollten alle Trägermaterialien unbedenklich sein. Derartig positive Ergebnisse sind absolut essenziell für vielversprechende Drug Delivery Systeme – diese werden schließlich eingesetzt, um den zytotoxischen Effekt des eingelagerten Wirkstoffes zu dämpfen und nicht, um diesen zu erhöhen.

Beim Vergleich der IC_{50} -Werte arsenhaltiger MFU-4l/Nanopartikel mit denen von ATO fällt auf, dass nach 72 h fast genau dieselben für beide Zelllinien ermittelt wurden. Durch die hohe ATO-Beladung und dessen schnelle sowie komplette Freisetzung verhalten sich die arsenhaltigen MFU-4l/Nanopartikel folglich sehr ähnlich wie freies ATO. Interessanterweise ist deren zytotoxischer Effekt dabei auf BT12 fast 6-mal höher als auf BT16.

Die arsenhaltigen ZIF-8 basierten Trägermaterialien weisen dagegen ein anderes Verhalten auf. Anders als bei MFU-4l, ist deren zytotoxische Wirkungen auf die beiden Zelllinien in etwa vergleichbar und sogar immer etwas höher auf BT16 als auf BT12. Folglich reagieren BT12-Zellen sensitiver auf MFU-4l und BT16-Zellen auf ZIF-8. Daraus lässt sich ableiten, dass unterschiedliche tumoröse Zelllinien anders auf verschiedene MOFs reagieren. Daher erscheint es durchaus sinnvoll stets die zytotoxische Wirkung auf mehrere Zelllinien zu untersuchen, um einen guten Einblick in das Toxizitätsverhalten eines neuartigen Drug Delivery Systems zu erhalten.

Der Vergleich zwischen den beiden arsenhaltigen ZIF-8 Trägermaterialien mit und ohne Fe_3O_4 -Kern zeigt allerdings, dass diese fast dieselben zytotoxischen Effekte bewirken. Dieser Befund legt nahe, dass die IC_{50} -Werte strukturell ähnlicher Trägermaterialien auf dieselben Zelllinien also durchaus vergleichbar sind. Zudem bestätigt dieses Ergebnis, dass der Fe_3O_4 -Kern die Zellviabilität nicht beeinträchtigt.

Ein abschließender Vergleich mit der zytotoxischen Wirkung der bisherigen in der Literatur beschriebenen ATO-Trägermaterialien war leider nicht möglich, da deren Wirkung auf BT12- und BT16-Zelllinien nicht untersucht wurde.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die Bestimmung von IC_{50} -Werten essentiell ist, um den zytotoxischen Effekt eines neuen Drug Delivery Systems mit und ohne Wirkstoff beurteilen zu können. Für eine vollständige Beurteilung der Zytotoxizität sollte hierbei allerdings stets mit mehreren Zelllinien gearbeitet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit war es möglich durch die Zytotoxizitätsstudien erste positive Ergebnisse für die Eignung von MOFs als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe zu erhalten. Alle untersuchten arsenfreien Trägermaterialien wiesen nur eine sehr geringe zytotoxische Wirkung auf, während ihre arsenhaltigen Analoga stets ein vergleichbares Verhalten zur ursprünglichem Medikament ATO gezeigt haben. Folglich könnten MOF-basierte Trägermaterialien vielversprechende Drug Delivery Systeme für den sicheren Transport hochtoxischer Wirkstoffe sein. Diese Erkenntnisse stellen einen großen Fortschritt bei der Behandlung solider Tumorentitäten dar.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Im Rahmen dieser Dissertation war es möglich die in der Zielsetzung formulierten Fragestellungen aufzuklären. Durch die Einführung von Metall-organischen Gerüstverbindungen als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe konnte ein neuartiger Ansatz für die Behandlung von soliden Tumorentitäten wie ATRTs entwickelt werden. Es ist zum ersten Mal erfolgreich gelungen drei verschiedene MOFs, namens MFU-4l, Zn-MOF-74 und ZIF-8, als Modellbeispiele mit hohen Mengen an arsenhaltigen Wirkstoffen zu modifizieren (**Kapitel 5.1-5.3**). Diese konnten erstmals auf der Basis präzise ausgearbeiteter Beladungsstrategien über koordinative Bindungen direkt in das jeweilige MOF-Netzwerk integriert werden. Daher übertreffen diese innovative MOF-basierten Trägermaterialien die bisher in der Literatur bekannten ATO-Trägermaterialien deutlich in allen relevanten Eigenschaften: Sie ermöglichen eine sehr hohe Wirkstoff-Beladungskapazität sowie eine günstige pH-gesteuerte Freisetzung und haben in ersten *in vitro* Zytotoxizitätsstudien vielversprechende Resultate ergeben. Somit hat die Erforschung von MOFs als Drug Delivery System gezeigt, dass diese sich hervorragend für den sicheren Transport von hochtoxischen Wirkstoffen wie Arsentrioxid eignen. Diese Erkenntnisse bringen das bestehende Wissen der Krebsforschung deutlich voran und stellen einen äußerst wichtigen Fortschritt bei der Entwicklung dringend benötigter, alternativer Therapien für Patienten mit ATRT-Erkrankungen dar.

Weiterhin konnten erste Schritte bei der Entwicklung MOF-basierter Theragnostika mit einem Fe_3O_4 -Kern gemacht werden. Zunächst ist die gezielte Synthese monodisperser, superparamagnetischer Fe_3O_4 -Nanocluster mit einer Gesamtpartikelgröße von 35 nm und einer stark hydrophilen Oberfläche gelungen (**Kapitel 5.5**). Diese haben sich bei der darauffolgenden intensiven Erforschung von umweltfreundlichen Verkapselungsansätzen mit verschiedenen MOFs bei Raumtemperatur als äußerst vorteilhaft für die Herstellung von Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikeln erwiesen (**Kapitel 5.6**). Auch das im Rahmen dieser Arbeit vielversprechendste Trägermaterial ZIF-8 konnte dabei erfolgreich als homogene Schale um die Fe_3O_4 -Nanocluster gewachsen werden. Letztlich konnte somit zum ersten Mal ein MOF-basiertes Theragnostikum, namens Fe_3O_4 -ZIF-8, für die Behandlung von soliden Tumorentitäten mit arsenhaltigen Wirkstoffen hergestellt und untersucht werden (**Kapitel 5.7**). Hierbei lag der Fokus sowohl auf der Beurteilung ihrer therapeutischen als auch diagnostischen Eigenschaften: Einerseits wurde ihre Eignung als pH-sensitives Drug Delivery System evaluiert und andererseits ihr Potential als effektives MRT-Kontrastmittel.

Im Folgenden werden die essenziellen Erkenntnisse dieser Dissertation zusammengefasst.

MFU-4l Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

Nanopartikel der Metall-organischen Gerüstverbindung MFU-4l konnten erfolgreich synthetisiert, über einen Seitenligandenaustausch mit H_2AsO_3^- -Anionen funktionalisiert und ihre *in vitro* Zytotoxizität mittels MTT-Test bewertet werden konnten.

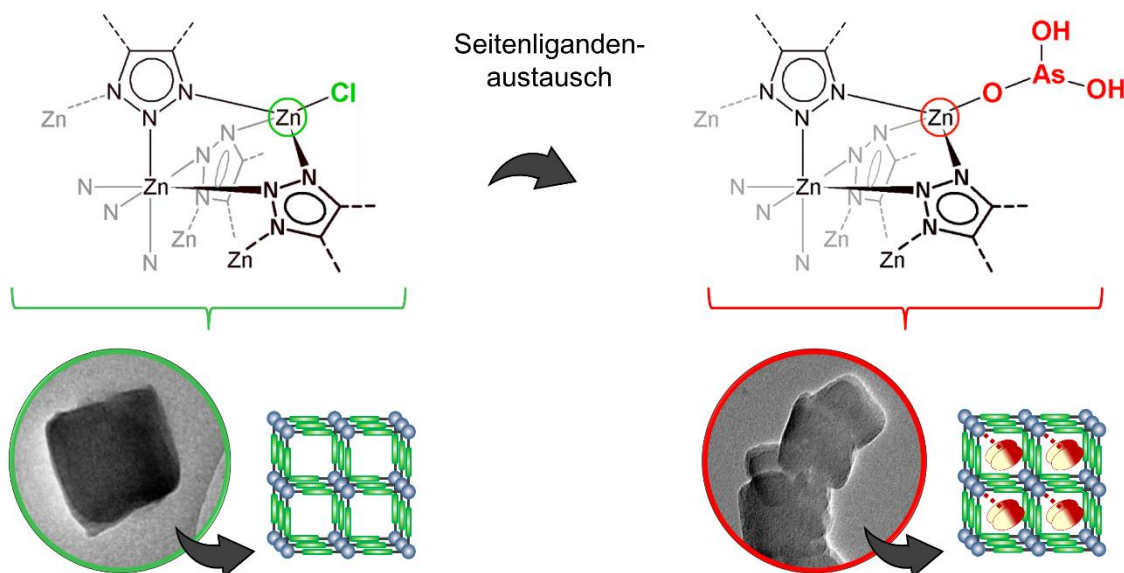


Abbildung 6.1: Darstellung des Seitenligandenaustausches der Chlorid-Anionen von MFU-4l durch Arsenit-Anionen und entsprechende TEM-Aufnahmen von MFU-4l und MFU-4l-OAs(OH)₂.

Die Studien mit MFU-4l haben gezeigt, dass es möglich ist mehr als 86 % der Chlorid-Anionen von MFU-4l durch H_2AsO_3^- auszutauschen. Mit einer Menge von 237 mg As_2O_3 in 1 g des gesamten Materials stellt MFU-4l damit sogar das ATO-Trägermaterial mit der höchsten in der Literatur berichteten Beladung dar. Die hergestellten arsenhaltigen MFU-4l-Nanopartikel wurden zudem mit PEG 6000 beschichtet, und die Arsen-Freisetzung aus den unbeschichteten und beschichteten Proben wurde in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei pH 6 und 7,4 analysiert. Die Wirkstoff-Freisetzung aus den nicht beschichteten Proben war zwar in den ersten Stunden hoch, konnte aber durch die Beschichtung deutlich verlangsamt werden. Beide Proben, MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂, erreichten nach 24 h eine fast vollständige Freisetzung und zeigten eine pH-Abhängigkeit mit einer erhöhten Arsen-Freisetzung bei niedrigerem pH-Wert. Die Charakterisierung des MOF nach den Freisetzungsstudien zeigte, dass MFU-4l dazu neigte die H_2AsO_3^- -Anionen rasch durch koexistierende Anionen, wie vor allem HPO_4^{2-} -Anionen, auszutauschen. Darüber hinaus zersetzte sich das Netzwerk teilweise, insbesondere bei niedrigeren pH-Werten, was ebenfalls die Arsen-Freisetzung beschleunigte. Die Zytotoxizitätsstudien zeigten, dass MFU-4l-OAs(OH)₂ ähnliche

Auswirkungen auf Krebs-Zelllinien hatte wie freies Arsentrioxid, und legten nahe, dass weder das Trägermaterial MFU-4l noch der freie MOF-Ligand H₂-BTDD kritische Schäden an den getesteten Zellkulturen verursachten.

Am Beispiel von MFU-4l konnte somit zum ersten Mal gezeigt werden, dass Nanopartikel auf Basis von Metall-organischen Gerüstverbindungen vielversprechende Kandidaten für den Transport und die Freisetzung von arsenhaltigen Wirkstoffen sein könnten.

Insbesondere MOFs, die wie MFU-4l einen Seitenligandenaustausch ermöglichen, können eine ausgezeichnete Wirkstoff-Beladungskapazität gewähren. Auf Basis der Ergebnisse der Arsen-Freisetzungsstudien sollte bei der Entwicklung weiterer MOF-basierter Wirkstoff-Trägermaterialien, die Seitenliganden zum Ladungsausgleich aufweisen, jedoch sehr genau auf die Porengrößenverteilung des MOF-Netzwerkes geachtet werden. Denn je kleiner die Poren des gewählten MOFs sind, desto langsamer findet die Diffusion der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ins Innere der Nanopartikel statt. Dadurch könnte sowohl der potentielle Austausch der Seitenliganden durch koexistente Ionen als auch die darauffolgende Wirkstoff-Freisetzung deutlich gehemmt werden. Desweiteren sollte auch bei zukünftigen MOF-basierten Wirkstoff-Trägermaterialien mit Oberflächenmodifikationen, wie zum Beispiel PEG-Beschichtungen, gearbeitet werden, da sich diese ebenfalls hervorragend eignen, um wird den Wirkstoff vor einem vorzeitigen Abbau oder vor Wechselwirkungen mit seiner Mikroumgebung zu schützen.

Zn-MOF-74 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass auch Zn-MOF-74 ein vielversprechendes Material für ein Drug Delivery System von arsenhaltigen Wirkstoffen darstellt.

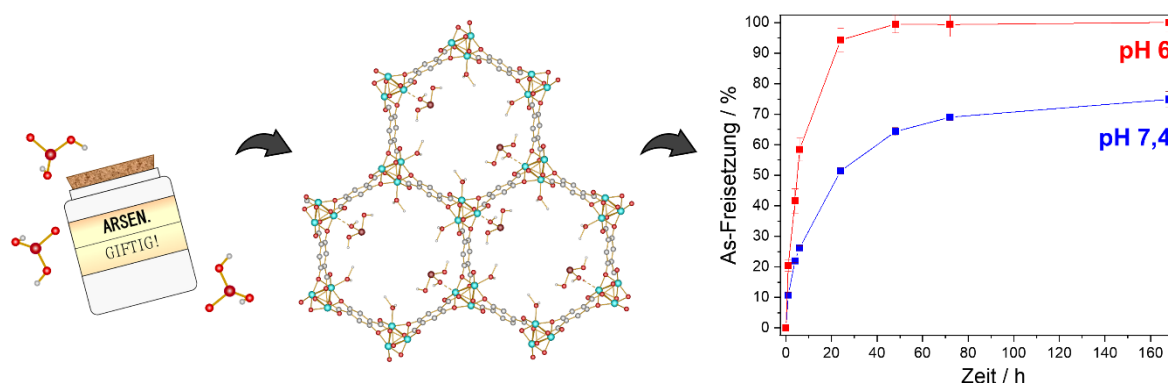


Abbildung 6.2: Darstellung der Beladung von Zn-MOF-74 mit arsenhaltigen Wirkstoffen und der pH-abhängigen Wirkstoff-Freisetzung bei pH 6 und pH 7,4.

Zn-MOF-74 hat alle wesentlichen Anforderungen an ein Drug Delivery System erfüllt: Es konnte im Nanoskala-maßstab synthetisiert werden, mit einer hohen Arsen-Menge, nämlich 153 mg As_2O_3 in 1 g arsenhaltigem Zn-MOF-74, beladen werden und – was äußerst wichtig ist – es zeigte eine pH-gesteuerte Arsen-Freisetzung in einem sehr günstigen pH-Bereich. Der arsenhaltige Wirkstoff wurde bei einem niedrigeren pH-Wert, der für die Mikroumgebung von Tumorgewebe typisch ist, schneller freigesetzt als bei einem pH-Wert von 7,4, der für gesundes Gewebe typisch ist.

Allerdings hat der Vergleich mit der Arsen-Freisetzungskinetik anderer MOF-basierter Trägermaterialien gezeigt, dass eine zusätzliche PEG-Beschichtung die Eignung von Zn-MOF-74 als Drug Delivery System vermutlich verbessert hätte. Eine Beschichtung würde die Diffusion der phosphatgepufferten Kochsalzlösung ins Innere der Nanopartikel vermutlich signifikant verlangsamen, sodass auch die dadurch verursachte zügige Nanopartikel-Zersetzung und anschließende Arsen-Freisetzung, vor allem innerhalb der ersten Stunden, hätte deutlich reduziert werden können.

Nichtsdestotrotz wurde am Beispiel von Zn-MOF-74 klar ersichtlich, dass MOFs mit zugänglichen Metallzentren in der Tat sehr nützliche Materialien bei der Entwicklung von Drug Delivery Systemen sein könnten – vor allem, wenn die Wirkstoffe beispielsweise aufgrund ihrer hohen Toxizität eine sehr gute Kontrolle über den Prozess der Wirkstoff-Beladung und -Freisetzung erfordern.

Bei der zukünftigen Entwicklung eines weiteren MOFs mit zugänglichen Metallzentren als Drug Delivery System sollte jedoch auf die folgenden drei Kriterien geachtet werden: Erstens sollte das MOF-Netzwerk im Idealfall so gewählt werden, dass es kleine Poren und eine für die entsprechende Anwendung geeignete pH-Stabilität aufweist – d.h. bei der Behandlung von soliden Tumorentitäten sollte das Netzwerk bei einem neutralem pH-Wert stabil sein und sich bei leicht aciden pH-Werten zersetzen. Zweitens sollte bei der Wirkstoff-Beladung unbedingt darauf geachtet werden, dass die gewählten Beladungsbedingungen das MOF-Netzwerk nicht beeinträchtigen und, dass durch diese eine koordinative Bindung des Wirkstoffes an die zugänglichen Metallzentren gegenüber allen anderen koexistenten Ionen oder Lösemittel-Molekülen favorisiert wird. Drittens sollte das hergestellte Wirkstoff-Trägermaterial definitiv mit einer zusätzlichen Oberflächen-Beschichtung, wie zum Beispiel PEG, versehen werden, um dessen Pharmakokinetik zu verbessern.

ZIF-8 Nanopartikel als Drug Delivery System für Arsentrioxid

In dieser Arbeit wurde ZIF-8 in einer Nanopartikel-Formulierung synthetisiert und erfolgreich mit Arsenit beladen. Der anionische As(III)-Wirkstoff wurde über postsynthetischen

Ligandenaustausch in das neutrale Netzwerk eingebracht. Um die Biokompatibilität des Materials zu verbessern und eine bessere Kontrolle über die Wirkstoff-Freisetzung zu erhalten, wurde die Oberfläche der Nanopartikel zusätzlich mit amino-funktionalisiertem Polyethylenglykol modifiziert.

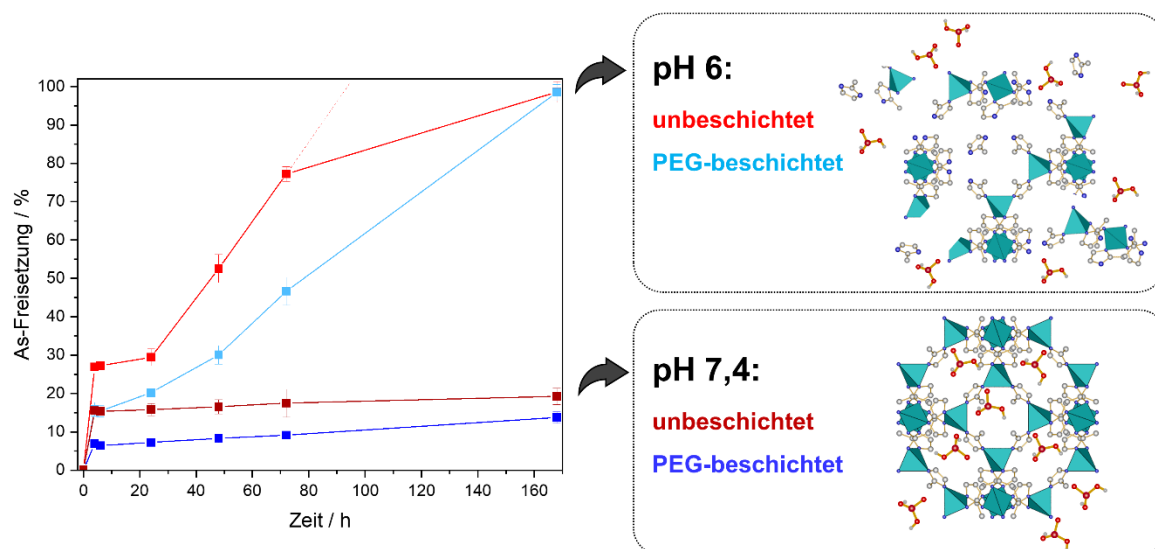


Abbildung 6.3: Darstellung der pH-abhängigen Wirkstoff-Freisetzung aus unbeschichteten und PEG-beschichteten ZIF-8 Nanopartikeln bei pH 6 und pH 7,4.

Beide arsenhaltigen Nanopartikel, As@ZIF-8 und beschichtetes As@ZIF-8, zeigten eine Beladungskapazität von bis zu 98 mg As_2O_3 pro 1 g Material. Die Arsen-Freisetzung aus den präparierten Trägermaterialien wurde in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei zwei verschiedenen pH-Werten (pH 7,4 und pH 6) untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die ZIF-8-Nanopartikel bei einem neutralen pH-Wert, d.h. einem pH-Wert von gesundem Gewebe und Blut, nur wenig Arsen freisetzen, während bei einem aciden pH-Wert, d.h. einem pH-Wert, der in Tumorgeweben vorkommt, eine vollständige Arsen-Freisetzung stattfand. Dies war auf einen Trägermaterial-Zerfall bei dem acideren pH-Wert zurückzuführen, was durch die Analyse des nach den Freisetzungsstudien verbliebenen Materials durchaus verifiziert wurde. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien zeigten, dass die einzelnen Bestandteile der Nanopartikel, ZIF-8 und 2-Methylimidazol, bei moderaten Konzentrationen keinen kritischen Schaden an der Fibroblast-Zelllinie verursachten. Darüber hinaus war die zytotoxische Wirkung der beiden arsenhaltigen Nanopartikel ähnlich oder geringer als die von ZIF-8. Im Gegenteil dazu zeigten beide arsenhaltigen Trägermaterialien bei niedrigen Konzentrationen eine erhebliche zytotoxische Wirkung auf Krebszelllinien. Zudem zeigten die arsenhaltigen Nanopartikel eine vergleichbare zytotoxische Wirkung wie freies Arsentrioxid.

Insgesamt erfüllte das ZIF-8 Netzwerk wesentliche Anforderungen an ein Arsen-Trägermaterial für die Krebstherapie: Eine geeignete Nanopartikelgröße, eine hohe Arsen-Beladungskapazität, ein sehr ausgeprägtes pH-getsteuertes Freisetzungsverhalten sowie vielversprechende Ergebnisse der ersten *in vitro* Experimente. Unter Berücksichtigung der geringen Zytotoxizität der Wirkstoff-beladenen Nanopartikel auf Fibroblasten und ihrer Zytotoxizität auf den ausgewählten Krebszelllinien, die mit dem freien Arzneimittel vergleichbar war, ist das ZIF-8 Material der im Rahmen dieser Arbeit vielversprechendste Kandidat für die Wirkstoff-Einlagerung und -Freisetzung von Arsentrioxid.

ZIF-8-basierte Wirkstoff-Trägermaterialien könnten also den gewünschten Vorteil des sicheren Wirkstoff-Transports im Körper und der gezielten Wirkstoff-Freisetzung, die durch eine pH-Änderung in der Nähe des Tumors ausgelöst wird, aufweisen. Folglich scheinen sich MOFs, deren Netzwerk kleine Poren hat, pH-sensitiv ist und eine Integration des Wirkstoffes über einen Ligandenaustausch ermöglicht, besonders gut als Wirkstoff-Trägermaterial zu eignen. Daher sind diese bei der zukünftigen Entwicklung von neuartigen Drug Delivery Systemen von besonderem Interesse.

Fe₃O₄-Nanopartikel

In dieser Arbeit konnten gezielt monodisperse Fe₃O₄-Nanocluster mit einer Gesamtgröße von $35,1 \pm 4,5$ nm und einer stark hydrophilen Oberfläche synthetisiert werden. Zudem konnten magnetische Messungen verifizieren, dass diese superparamagnetisches Verhalten aufweisen. Alles in allem erfüllen die synthetisierten Fe₃O₄-Nanocluster also alle essenziellen Kriterien, um sich als Kern für Fe₃O₄-MOF Kern-Schale-Nanopartikel zu eignen: Sie sind kleiner als 50 nm, ihre Oberfläche ist modifiziert und sie sind superparamagnetisch.

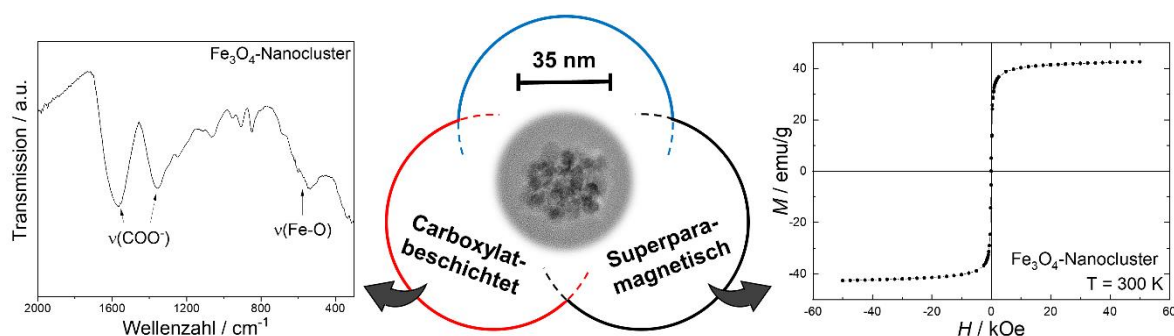


Abbildung 6.4: Fe₃O₄-Nanocluster mit einer Gesamtpartikelgröße von 35 nm, einer Carboxylat-Beschichtung und superparamagnetischen Eigenschaften.

Durch die erfolgreiche Synthese der Fe_3O_4 -Nanocluster war es im weiteren Verlauf dieser Arbeit möglich deren Beschichtung mit MOFs sowie deren potentielle Eignung als Kern für Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel für theragnostische Anwendungen im Detail zu untersuchen.

Fe_3O_4 -MOF Nanopartikel

Zusammenfassend kann man sagen, dass es im Rahmen dieser Disseration zum ersten Mal erfolgreich gelungen ist unterschiedliche, umweltfreundliche Verkapselungsansätze von Fe_3O_4 -Nanoclustern mit den drei MOFs MOF-74(Mg), UiO-66- NH_2 (Zr) und ZIF-8(Zn) zu entwickeln.

Die Charakterisierung aller hergestellten Proben durch XRPD und FT-IR konnte eindeutig nachweisen, dass die Proben ausschließlich den Fe_3O_4 -Kern und die MOF-Schale enthalten. Das TEM bzw. STEM hat sich als extrem hilfreiche Methode herausgestellt, um die Kern-Schale-Struktur der hergestellten Proben zu visualisieren und die Dicke der MOF-Schale zu ermitteln. Dadurch war es möglich die gewählten Reaktionsbedingungen zügig zu beurteilen und gegebenenfalls anzupassen.

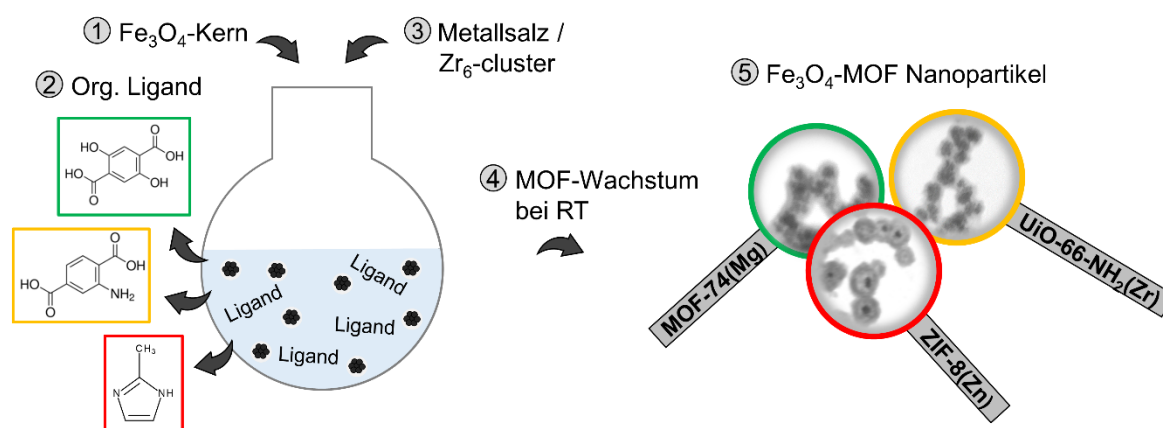


Abbildung 6.5: Darstellung der einfachen Synthese von Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikeln bei Raumtemperatur mit den drei MOFs MOF-74(Mg), UiO-66- NH_2 (Zr) und ZIF-8(Zn).

Insgesamt war es für alle drei MOFs zum ersten Mal möglich Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel mit einer homogenen Schale und mit einer Gesamtpartikelgröße von unter 100 nm bei Raumtemperatur zu synthetisieren. Auf Basis dieser Ergebnisse sollten bei der zukünftigen Entwicklung von umweltfreundlichen Verkapselungsansätzen von Fe_3O_4 -Nanoclustern mit strukturell ähnlichen MOFs nur wenige Optimierungsschritte benötigt werden, um weitere neuartige Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel mit weniger als 100 nm Gesamtgröße herzustellen.

Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel als theragnostisches Drug Delivery System für Arsentrioxid

Die in dieser Arbeit erfolgreich hergestellten Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel, die zum ersten Mal mit einer Gesamtpartikelgröße von unter 100 nm synthetisiert werden konnten, konnten abschließend im Hinblick auf ihr theragnostisches Potenzial untersucht werden: Einerseits als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe, was durch die poröse MOF-Schale ermöglicht wurde, und andererseits als MRT-Kontrastmittel, was durch den superparamagnetischen Fe₃O₄-Kern ermöglicht wurde.

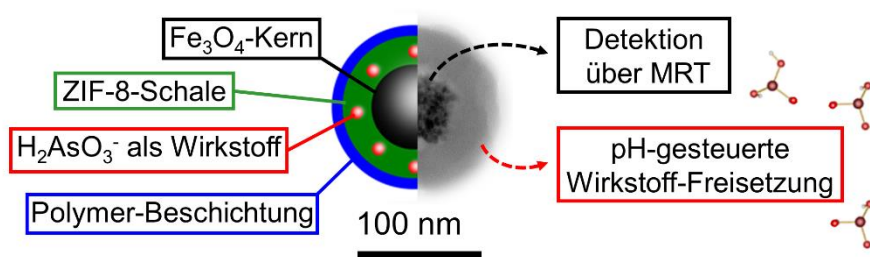


Abbildung 6.6: Eine Kombination aus einer schematischen Darstellung und einer TEM-Aufnahme eines Fe₃O₄-ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikels, der zur pH-gesteuerten Wirkstoff-Freisetzung und Nachverfolgung mittels MRT geeignet ist.

Der arsenhaltige Wirkstoff wurde über einen postsynthetischen Ligandenaustausch in das Netzwerk der porösen ZIF-8-Schale eingebracht, wobei sich eine Beladungskapazität von etwa 70 mg As₂O₃ in 1 g Trägermaterial ergab. Die Oberfläche der Nanopartikel wurde anschließend mit amino-funktionalisiertem Polyethylenglykol modifiziert, um die Biokompatibilität und Dispergierbarkeit des Trägermaterials zu verbessern. Um die physiologischen Bedingungen im Körper nachzuahmen, wurden Studien zur Wirkstoff-Freisetzung in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei zwei verschiedenen pH-Werten durchgeführt: Bei pH 7,4, d.h. der pH-Wert von gesundem Gewebe und Blut, und bei pH 6, d.h. der pH-Wert, der in Tumorgeweben gefunden wird. Bei pH 6 zersetzte sich die poröse ZIF-8-Schale rasch vollständig und induzierte somit eine vollständige Arsen-Freisetzung. Bei pH 7,4 dagegen setzten die arsenhaltigen Kern-Schale-Nanopartikel PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 nach 168 h nur etwa die Hälfte des beladenen Arsens frei – wobei der größte Teil innerhalb der ersten 24 h freigesetzt wurde. Dies war auf den partiellen Zerfall der Kern-Schale-Nanopartikel in der phosphatgepufferten Kochsalzlösung zurückzuführen, der zur Bildung kleinerer arsenhaltiger ZIF-8-Nanopartikel führte, die um den Fe₃O₄-Kern aggregiert waren.

In vitro Zytotoxizitätsstudien mit arsenfreien und arsenhaltigen Kern-Schale-Nanopartikeln zeigten, dass das Trägermaterial selbst bei moderaten Konzentrationen weder Fibroblasten

(pH 7,4) noch den beiden Krebszelllinien (pH 6) einen kritischen Schaden zufügte. Im Falle der arsenhaltigen Nanopartikel wurde jedoch eine erhebliche zytotoxische Wirkung auf die Krebszelllinien beobachtet. Bei höheren Konzentrationen war dieser zytotoxische Effekt auch an Fibroblasten zu erkennen, was auf eine partielle Arsen-Freisetzung aufgrund eines teilweisen Kern-Schale-Nanopartikel-Zerfall zurückgeführt wurde. Nichtsdestotrotz gab es einen beträchtlichen Unterschied in der Wirkstoff-Freisetzung und der Zytotoxizitätswirkung in den verschiedenen Zelllinien, und es konnte tatsächlich eine zellspezifische Wirkstoff-Freisetzung beobachtet werden, die in der Krebstherapie höchst wünschenswert ist.

SQUID-Messungen mit den Fe_3O_4 -Nanoclustern und dem arsenfreien Trägermaterial bei Raumtemperatur bestätigten, dass beide Materialien superparamagnetisch sind. Die durch *in vitro* MR-Bildgebung erzielten Ergebnisse bestätigten, dass Fe_3O_4 -ZIF-8 Nanopartikel vielversprechende Kandidaten als wirksame MRT-Kontrastmittel sind. Der Vorteil liegt dabei in der Tatsache, dass ein starker T_2 -Kontrast bereits bei niedrigen Konzentrationen erhalten werden kann, was zu einer niedrigen benötigten Dosis der Trägermaterialien bei der Anwendung *in vivo* führt. Somit könnte eine mögliche toxische Wirkung vermieden werden.

Alles in allem erfüllten die hergestellten Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel alle wesentlichen Anforderungen für die Theragnostik: Zum einen können sie mit einer hohen Menge des ausgewählten arsenhaltigen Wirkstoffes beladen werden und zum anderen sind sie superparamagnetisch und können daher, wie *in vitro* MRT-Studien gezeigt haben, als MRT-Kontrastmittel eingesetzt werden. Darüber hinaus haben erste *in vitro* Zytotoxizitätsstudien gezeigt, dass das Trägermaterial eine pH-gesteuerte Wirkstoff-Freisetzung und eine zellspezifische Toxizität aufweist.

Nachdem die Arsen-Freisetzungstudien gezeigt haben, dass die hergestellten Fe_3O_4 -ZIF-8 Kern-Schale-Nanopartikel etwas schlechtere Freisetzungskinetik als die ZIF-8 Nanopartikel ohne Fe_3O_4 -Kern aufweisen, sollten diese in einem nächsten Schritt weiter optimiert werden. Dabei könnte der Fokus zum Beispiel auf der Verwendung noch kleinerer Fe_3O_4 -Nanocluster oder sogar einzelner Fe_3O_4 -Nanopartikel als Kern liegen. Somit würde die ZIF-8-Schale den größten Teil dieser Kern-Schale-Nanopartikel darstellen, was eine höhere Wirkstoff-Beladung sowie eine verbesserte Materialstabilität ermöglichen sollte.

Darüber hinaus eröffnen die erzielten Ergebnisse ganz neue Perspektiven für die Entwicklung weiterer Fe_3O_4 -MOF Kern-Schale-Nanopartikel für theragnostische sowie zahlreiche weitere Anwendungen.

7. Literaturverzeichnis

- [1] S. I. Hajdu, *Cancer* **2005**, 103, 1097.
- [2] E. H. Ackerknecht, *A short history of medicine*, Johns Hopkins University Press, Baltimore, **2016**.
- [3] K. F. Ginn, A. Gajjar, *Front. Oncol.* **2012**, 2, 114.
- [4] A. Biswas, L. Kashyap, A. Kakkar, C. Sarkar, P. K. Julka, *Cancer Manag. Res.* **2016**, 8, 115.
- [5] NobelPrize.org, "The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1908", can be found under <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1908/summary/>, **2020**.
- [6] K. Strebhardt, A. Ullrich, *Nat. Rev. Cancer* **2008**, 8, 473.
- [7] A. Yarnell, *Chem. Eng. News* **2005**, 83, 116.
- [8] J. Parascandola, *King of Poisons. A History of Arsenic*, Potomac Books Inc, Dulles, **2012**.
- [9] E. P. Swindell, P. L. Hankins, H. Chen, D. U. Miodragović, T. V. O'Halloran, *Inorg. Chem.* **2013**, 52, 12292.
- [10] P. Z. Moghadam, A. Li, S. B. Wiggin, A. Tao, A. G. P. Maloney, P. A. Wood, S. C. Ward, D. Fairen-Jimenez, *Chem. Mater.* **2017**, 29, 2618.
- [11] D. Farrusseng, *Metal-Organic Frameworks*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, **2011**.
- [12] G. Férey, *Chem. Soc. Rev.* **2008**, 37, 191.
- [13] O. K. Farha, I. Eryazici, N. C. Jeong, B. G. Hauser, C. E. Wilmer, A. A. Sarjeant, R. Q. Snurr, S. T. Nguyen, A. Ö. Yazaydin, J. T. Hupp, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 15016.
- [14] Z. R. Herm, E. D. Bloch, J. R. Long, *Chem. Mater.* **2013**, 26, 323.
- [15] L. Jiao, Y. Wang, H.-L. Jiang, Q. Xu, *Adv. Mater.* **2017**, 1703663.
- [16] L. Zhu, X.-Q. Liu, H.-L. Jiang, L.-B. Sun, *Chem. Rev.* **2017**, 117, 8129.
- [17] L. Liu, Y. Zhou, S. Liu, M. Xu, *ChemElectroChem* **2018**, 5, 6.
- [18] L. E. Kreno, K. Leong, O. K. Farha, M. Allendorf, R. P. van Duyne, J. T. Hupp, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 1105.
- [19] M. Giménez-Marqués, T. Hidalgo, C. Serre, P. Horcajada, *Coord. Chem. Rev.* **2016**, 307, 342.
- [20] P. Horcajada, C. Serre, M. Vallet-Regí, M. Sebban, F. Taulelle, G. Férey, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 5974; *Angew. Chem.* **2006**, 118, 6120.
- [21] S. Jakka, M. Rossbach, *Hugo J* **2013**, 7, 1.
- [22] Funkhouser J., *Current Drugs Discov.* **2002**, 2, 17.
- [23] J. Mo, P. K. Eggers, Z.-x. Yuan, C. L. Raston, L. Y. Lim, *Sci. Rep.* **2016**, 6, 23489.
- [24] Y. Hu, S. Mignani, J.-P. Majoral, M. Shen, X. Shi, *Chem. Soc. Rev.* **2018**, 47, 1874.
- [25] World Health Organization, "Fact Sheet - Cancer", can be found under <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.
- [26] D. Peer, J. M. Karp, S. Hong, O. C. Farokhzad, R. Margalit, R. Langer, *Nat. Nanotechnol.* **2007**, 2, 751.
- [27] Matsumura Y., Maeda H., *Cancer Res.* **1986**, 46, 6387.

- [28] J. K. Patra, G. Das, L. F. Fraceto, E. V. R. Campos, M. D. P. Rodriguez-Torres, L. S. Acosta-Torres, L. A. Diaz-Torres, R. Grillo, M. K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam, H.-S. Shin, *J Nanobiotechnology* **2018**, 16, 71.
- [29] S. Hossen, M. K. Hossain, M. K. Basher, M. N. H. Mia, M. T. Rahman, M. J. Uddin, *J. Adv. Res.* **2019**, 15, 1.
- [30] W. H. de Jong, P. J. A. Borm, *Int. J. Nanomed.* **2008**, 3, 133.
- [31] I. F. Tannock, D. Rotin, *Cancer Res.* **1989**, 49, 4373.
- [32] A. Bianco, K. Kostarelos, M. Prato, *Curr Opin Chem Biol* **2005**, 9, 674.
- [33] H. Wang, Q. Huang, H. Chang, J. Xiao, Y. Cheng, *Biomater Sci.* **2016**, 4, 375.
- [34] H. Mok, M. Zhang, *Expert Opin Drug Deliv.* **2013**, 10, 73.
- [35] E. C. Dreaden, L. A. Austin, M. A. Mackey, M. A. El-Sayed, *Ther. Deliv.* **2012**, 3, 457.
- [36] L. Sercombe, T. Veerati, F. Moheimani, S. Y. Wu, A. K. Sood, S. Hua, *Front Physiol.* **2015**, 6, 286.
- [37] A. Watermann, J. Brieger, *Nanomaterials* **2017**, 7.
- [38] S. Cajot, D. Schol, F. Danhier, V. Préat, M.-C. Gillet De Pauw, C. Jérôme, *Macromol Biosci.* **2013**, 13, 1661.
- [39] R. Gui, A. Wan, Y. Zhang, H. Li, T. Zhao, *Anal. Chem.* **2014**, 86, 5211.
- [40] G. Maurin, C. Serre, A. Cooper, G. Férey, *Chem. Soc. Rev.* **2017**, 46, 3104.
- [41] S. Jeelani, R. C. J. Reddy, T. Maheswaran, G. S. Asokan, A. Dany, B. Anand, *J. Pharm. Bioallied Sci.* **2014**, 6, S6-8.
- [42] S. Frangos, J. R. Buscombe, *Eur. J. Nucl. Med. Mol. I.* **2019**, 46, 519.
- [43] K. Riehemann, S. W. Schneider, T. A. Luger, B. Godin, M. Ferrari, H. Fuchs, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 872; *Angew. Chem.* **2009**, 121, 886.
- [44] J.-M. Idée, S. Louguet, S. Ballet, C. Corot, *Quant Imaging Med Surg* **2013**, 3, 292.
- [45] A. Akhtar, S. Xiaoyan Wang, L. Ghali, C. Bell, X. Wen, *J. Biomed. Res.* **2017**, 31, 177.
- [46] D. Doyle, *Br. J. Haematol.* **2009**, 145, 309.
- [47] J. Hu, J. Fang, Y. Dong, S. J. Chen, Z. Chen, *Anti-Cancer Drugs* **2005**, 16, 119.
- [48] J. G. Gibaud S. in *Topics in Organometallic Chemistry, Vol. 32* (Eds.: G. Jaouen, R. Alberto), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2010**.
- [49] T. Fowler, *Lond Med J.* **1786**, 7, 192.
- [50] A. Béchamp, *C. R. Acad. Sci.* **1863**, 56, 1172.
- [51] N. C. Lloyd, H. W. Morgan, B. K. Nicholson, R. S. Ronimus, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 941; *Angew. Chem.* **2005**, 117, 963.
- [52] A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, G. Fischer, *Anorganische Chemie*, De Gruyter, Berlin, Boston, **2017**.
- [53] D. Mohan, C. U. Pittman, *J. Hazard. Mater.* **2007**, 142, 1.
- [54] F. Challenger, *Chem. Rev.* **1945**, 36, 315.
- [55] I. Khairul, Q. Q. Wang, Y. H. Jiang, C. Wang, H. Naranmandura, *Oncotarget* **2017**, 8, 23905.
- [56] R. Sur, H. Hajimiragha, J. Begerow, L. Dunemann, *Chem. unserer Zeit* **2003**, 37, 248.

-
- [57] Hartwig A., *Arsen und anorganische Arsenverbindungen (mit Ausnahme von Arsenwasserstoff), Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, Wiley-VCH, Weinheim, **2015**.
- [58] S. J. Ralph, *Met. Based Drugs*. **2008**, 2008, 260146.
- [59] A. M. Stacy, J. A. Coonrod, J. Claesgens, *Toxins. Chemical reactions and stoichiometry*, Key Curriculum Press, Emeryville, CA, **2004**.
- [60] Jiong Hu, Jing Fang, Yin Dong, Sai Chen, Zhu Chen, *Anticancer Drugs* **2005**, 2, 119.
- [61] European Medical Agency (EMA), *Trisenox EMEA/H/C000388/II/0058 assessment report*, **2016**.
- [62] K. Kerl, N. Moreno, T. Holsten, J. Ahlfeld, J. Mertins, M. Hotfilder, M. Kool, K. Bartelheim, S. Schleicher, R. Handgretinger, U. Schüller, M. Meisterernst, M. C. Frühwald, *Int. J. Cancer* **2014**, 135, 989.
- [63] R. W. Ahn, F. Chen, H. Chen, S. T. Stern, J. D. Clogston, A. K. Patri, M. R. Raja, E. P. Swindell, V. Parimi, V. L. Cryns, T. V. O'Halloran, *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* **2010**, 16, 3607.
- [64] Y. Du, D. Zhang, H. Liu, R. Lai, *BMC biotechnology* **2009**, 9, 84.
- [65] X. Song, J. You, J. Wang, A. Zhu, L. Ji, R. Guo, *Chem. Res. Chin. Univ.* **2014**, 30, 326.
- [66] X. Xiao, Y. Liu, M. Guo, W. Fei, H. Zheng, R. Zhang, Y. Zhang, Y. Wei, G. Zheng, F. Li, *J Biomater Appl.* **2016**, 31, 23.
- [67] F. Muhammad, J. Zhao, N. Wang, M. Guo, A. Wang, L. Chen, Y. Guo, Q. Li, G. Zhu, *Colloids Surf B Biointerfaces*. **2014**, 123, 506.
- [68] A. Corma, J. Čejka, S. Zones (Eds.) *Zeolites and catalysis. Synthesis, reactions and applications*, John Wiley distributor, Weinheim, Chichester, **2010**.
- [69] S. R. Batten, N. R. Champness, X.-M. Chen, J. Garcia-Martinez, S. Kitagawa, L. Öhrström, M. O'Keeffe, M. P. Suh, J. Reedijk, *CrystEngComm* **2012**, 14, 3001.
- [70] O. M. Yaghi, H. Li, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, 117, 10401.
- [71] R. A. Fischer, I. Schwedler, *Angew. Chem.* **2014**, 126, 7209.
- [72] S. R. Batten, N. R. Champness, X.-M. Chen, J. Garcia-Martinez, S. Kitagawa, L. Öhrström, M. O'Keeffe, M. Paik Suh, J. Reedijk, *Pure Appl. Chem* **2013**, 85, 1715.
- [73] H. Li, M. Eddaoudi, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, *Nature* **1999**, 402, 276.
- [74] Chui, Lo Charmant, Orpen, Williams, *Science* **1999**, 283, 1148.
- [75] T. Loiseau, C. Serre, C. Huguenard, G. Fink, F. Taulelle, M. Henry, T. Bataille, G. Férey, *Chemistry* **2004**, 10, 1373.
- [76] N. L. Rosi, J. Kim, M. Eddaoudi, B. Chen, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 1504.
- [77] P. D. C. Dietzel, Y. Morita, R. Blom, H. Fjellvåg, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 6354; *Angew. Chem.* **2005**, 117, 6512.
- [78] N. Stock, S. Biswas, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 933.
- [79] O. M. Yaghi, M. O'Keeffe, N. W. Ockwig, H. K. Chae, M. Eddaoudi, J. Kim, *Nature* **2003**, 423, 705.
- [80] S. Horike, S. Shimomura, S. Kitagawa, *Nat. Chem.* **2009**, 1, 695.
- [81] H. Li, K. Wang, Y. Sun, C. T. Lollar, J. Li, H.-C. Zhou, *Mater. Today* **2018**, 21, 108.

- [82] P. Horcajada, T. Chalati, C. Serre, B. Gillet, C. Sebrie, T. Baati, J. F. Eubank, D. Heurtaux, P. Clayette, C. Kreuz, J.-S. Chang, Y. K. Hwang, V. Marsaud, P.-N. Bories, L. Cynober, S. Gil, G. Férey, P. Couvreur, R. Gref, *Nat. Mater.* **2010**, 9, 172.
- [83] P. Horcajada, C. Serre, G. Maurin, N. A. Ramsahye, F. Balas, M. Vallet-Regí, M. Sebban, F. Taulelle, G. Férey, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 6774.
- [84] D. Denysenko, M. Grzywa, M. Tonigold, B. Streppel, I. Krkljus, M. Hirscher, E. Mugnaioli, U. Kolb, J. Hanss, D. Volkmer, *Chem. Eur. J.* **2011**, 17, 1837.
- [85] K. S. Park, Z. Ni, A. P. Côté, J. Y. Choi, R. Huang, F. J. Uribe-Romo, H. K. Chae, M. O'Keeffe, O. M. Yaghi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 10186.
- [86] D. Denysenko, M. Grzywa, J. Jelic, K. Reuter, D. Volkmer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, 53, 5832; *Angew. Chem.* **2014**, 126, 5942.
- [87] D. Denysenko, J. Jelic, K. Reuter, D. Volkmer, *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 8188.
- [88] H. Deng, S. Grunder, K. E. Cordova, C. Valente, H. Furukawa, M. Hmadeh, F. Gándara, A. C. Whalley, Z. Liu, S. Asahina, H. Kazumori, M. O'Keeffe, O. Terasaki, J. F. Stoddart, O. M. Yaghi, *Science* **2012**, 336, 1018.
- [89] D. J. Tranchemontagne, J. R. Hunt, O. M. Yaghi, *Tetrahedron* **2008**, 64, 8553.
- [90] C.-Y. Sun, C. Qin, X.-L. Wang, G.-S. Yang, K.-Z. Shao, Y.-Q. Lan, Z.-M. Su, P. Huang, C.-G. Wang, E.-B. Wang, *Dalton Trans.* **2012**, 41, 6906.
- [91] H. Zhang, Q. Li, R. Liu, X. Zhang, Z. Li, Y. Luan, *Adv. Funct. Mater.* **2018**, 28, 1802830.
- [92] A. Farzin, S. A. Etesami, J. Quint, A. Memic, A. Tamayol, *Adv. Healthc. Mater.* **2020**, e1901058.
- [93] W. Wu, Q. He, C. Jiang, *Nanoscale research letters* **2008**, 3, 397.
- [94] K. Ulbrich, K. Holá, V. Šubr, A. Bakandritsos, J. Tuček, R. Zbořil, *Chem. Rev.* **2016**, 116, 5338.
- [95] C. S. S. R. Kumar (Ed.) *Nanomaterials for the life sciences*, / ed. by Challa S. S. R. Kumar ; Vol. 4, Wiley-VCH, Weinheim, **2009**.
- [96] S. Laurent, D. Forge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R. N. Muller, *Chem. Rev.* **2008**, 108, 2064.
- [97] R. Ricco, L. Malfatti, M. Takahashi, A. J. Hill, P. Falcaro, *J. Mater. Chem. A* **2013**, 1, 13033.
- [98] M. Aghayi-Anaraki, V. Safarifard, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2020**, 2020, 1916.
- [99] F. Xu, C. Cheng, D.-X. Chen, H. Gu, *ChemPhysChem* **2012**, 13, 336.
- [100] J. Yousaf, S. Avula, L. J. Abernethy, C. L. Mallucci, *Surgical neurology international* **2012**, 3, S65-72.
- [101] F. Schick, *Radiologe* **2005**, 45, 69.
- [102] M. Reiser, W. Semmler, *Magnetresonanztomographie*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2002**.
- [103] Y.-W. Jun, Y.-M. Huh, J.-S. Choi, J.-H. Lee, H.-T. Song, S. Kim, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 5732.
- [104] G. Stoll, M. Bendszus, *Neuroscience* **2009**, 158, 1151.
- [105] L.-S. Wang, M.-C. Chuang, J.-A. A. Ho, *Int. J. Nanomed.* **2012**, 7, 4679.
- [106] E. Cazares-Cortes, S. Cabana, C. Boitard, E. Nehlig, N. Griffete, J. Fresnais, C. Wilhelm, A. Abou-Hassan, C. Ménager, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2019**, 138, 233.
- [107] R. Hergt, S. Dutz, *J. Magn. Magn. Mater.* **2007**, 311, 187.

-
- [108] S. Rajkumar, M. Prabakaran in *Noble Metal-Metal Oxide Hybrid Nanoparticles // Theranostic Application of Fe₃O₄-Au Hybrid Nanoparticles* (Eds.: S. Rajkumar, M. Prabakaran), Elsevier, **2019**, pp. 607–623.
- [109] G. Prabha, V. Raj, *J. Magn. Magn. Mater.* **2016**, *408*, 26.
- [110] L. Cheng, Y. Liu, B. Zou, Y. Yu, W. Ruan, Y. Wang, *Mat. Sci. Eng. C-Mater.* **2017**, *75*, 829.
- [111] Y.-S. Huang, Y.-J. Lu, J.-P. Chen, *J. Magn. Magn. Mater.* **2017**, *427*, 34.
- [112] H. Peng, C. Hu, J. Hu, X. Tian, T. Wu, *Microporous Mesoporous Mater.* **2016**, *226*, 140.
- [113] L. Shen, B. Li, Y. Qiao, *Materials* **2018**, *11*.
- [114] H. Zhao, H.-J. Cui, M.-L. Fu, *J. Colloid Interface Sci.* **2016**, *461*, 20.
- [115] G. Chen, B. Yu, C. Lu, H. Zhang, Y. Shen, H. Cong, *CrystEngComm* **2018**, *20*, 7486.
- [116] F. Ke, L.-G. Qiu, Y.-P. Yuan, X. Jiang, J.-F. Zhu, *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 9497.
- [117] H.-X. Zhao, Q. Zou, S.-K. Sun, C. Yu, X. Zhang, R.-J. Li, Y.-Y. Fu, *Chem. Sci.* **2016**, *7*, 5294.
- [118] S.-H. Huo, X.-P. Yan, *The Analyst* **2012**, *137*, 3445.
- [119] A. Schejn, T. Mazet, V. Falk, L. Balan, L. Aranda, G. Medjahdi, R. Schneider, *Dalton Trans.* **2015**, *44*, 10136.
- [120] F. Ke, L.-G. Qiu, J. Zhu, *Nanoscale* **2014**, *6*, 1596.
- [121] J. Li, H. Gao, L. Tan, Y. Luan, M. Yang, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2016**, *2016*, 4906.
- [122] F. Pang, M. He, J. Ge, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 6879.
- [123] H. Lu, L. Zhang, B. Wang, Y. Long, M. Zhang, J. Ma, A. Khan, S. P. Chowdhury, X. Zhou, Y. Ni, *Cellulose* **2019**, *12*, 7353.
- [124] X. Min, W. Yang, Y.-F. Hui, C.-Y. Gao, S. Dang, Z.-M. Sun, *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 4199.
- [125] X. Chen, N. Ding, H. Zang, H. Yeung, R.-S. Zhao, C. Cheng, J. Liu, T.-W. D. Chan, *J. Chromatogr. A* **2013**, *1304*, 241.
- [126] J. Wang, G. Zhao, F. Yu, *J. Taiwan. Inst. Chem. Eng.* **2016**, *69*, 139.
- [127] J. Zhou, G. Tian, L. Zeng, X. Song, X.-W. Bian, *Adv. Healthc. Mater.* **2018**, *7*, 1800022.
- [128] W. Kleber, H.-J. Bartsch, J. Böhm, *Einführung in die Kristallographie* **2010**.
- [129] W. Massa, *Kristallstrukturbestimmung*, Teubner, Wiesbaden, **2007**.
- [130] U. Holzwarth, N. Gibson, *Nat. Nanotechnol.* **2011**, *6*, 534.
- [131] P. Scherrer, *Göttinger Nachrichten Math. Phys.* **1918**, *2*, 98.
- [132] Y. M. Mos, A. C. Vermeulen, C. J. N. Buisman, J. Weijma, *Geomicrobiol. J.* **2018**, *35*, 511.
- [133] P. M. Skrabal, *Spektroskopie. Eine methodenübergreifende Darstellung vom UV-bis zum NMR-Bereich*, vdf Hochschulverlag, Zürich, **2020**.
- [134] M. Hesse, H. Meier, B. Zeeh, S. Bienz, L. Bigler, T. Fox, *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **2016**.
- [135] T. Bruhn, A. Schaumlöffel, Y. Hemberger, G. Bringmann, *Chirality* **2013**, *25*, 243.

- [136] D. B. Chase, J. F. Rabolt (Eds.) *Fourier transform Raman spectroscopy. From concept to experiment*, Acad. Press, San Diego, **1994**.
- [137] L. Sarkisov, A. Harrison, *Mol. Simulat.* **2011**, 37, 1248.
- [138] R. F. Egerton, *Physical principles of electron microscopy. An introduction to TEM, SEM, and AEM*, Springer, New York, NY, **2008**.
- [139] D. B. Williams, C. B. Carter, *Transmission Electron Microscopy. A Textbook for Materials Science*, Springer US, Boston, MA, **2009**.
- [140] A. J. Garratt-Reed, D. C. Bell, *Energy-dispersive X-ray analysis in the electron microscope*, BIOS, Oxford, **2003**.
- [141] H. Salmang, H. Scholze, R. Telle, *Keramik (German Edition)*, Springer, Dordrecht, **2007**.
- [142] J. Nölte, *ICP-Emissionsspektrometrie für Praktiker. Grundlagen, Methodenentwicklung, Anwendungsbeispiele*, Wiley-VCH, Weinheim, **2005**.
- [143] Vario Elementar, "Factsheet - Elementaranalyse der Königsklasse", can be found under <https://www.elementar.com/de/produkte/organische-elementaranalyse/vario-el-cube.html>.
- [144] T. Mosmann, *J. Immunol. Methods.* **1983**, 65, 55.
- [145] A. I. Braginski, J. Clarke, *The SQUID handbook. Vol. 1: Fundamentals and technology of SQUIDs and SQUID systems*, Wiley-VCH, Weinheim, **2004**.
- [146] B. Delley, *J. Chem. Phys.* **1990**, 92, 508.
- [147] B. Delley, *J. Chem. Phys.* **2000**, 113, 7756.
- [148] S. J. Clark, M. D. Segall, C. J. Pickard, P. J. Hasnip, M. I. J. Probert, K. Refson, M. C. Payne, *Z. Kristallog. – Cryst. Mater.* **2005**, 220, 191.
- [149] E. R. McNellis, J. Meyer, K. Reuter, *Phys. Rev. B* **2009**, 80, 1.
- [150] A. Tkatchenko, M. Scheffler, *Phys. Rev. Lett.* **2009**, 102, 73005.
- [151] K. Refson, P. R. Tulip, S. J. Clark, *Phys. Rev. B* **2006**, 73, R4954.
- [152] R. Ettlinger, M. Sönksen, M. Graf, N. Moreno, D. Denysenko, D. Volkmer, K. Kerl, H. Bunzen, *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 6481.
- [153] A. Subastri, V. Arun, P. Sharma, E. Preedia Babu, A. Suyavaran, S. Nithyananthan, G. M. Alshammari, B. Aristatile, V. Dharuman, C. Thirunavukkarasu, *Chem. Biol. Interact.* **2017**.
- [154] J. An, S. J. Geib, N. L. Rosi, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 8376.
- [155] V. Agostoni, P. Horcajada, M. Noiray, M. Malanga, A. Aykaç, L. Jicsinszky, A. Vargas-Berenguel, N. Semiramo, S. Daoud-Mahammed, V. Nicolas, C. Martineau, F. Taulelle, J. Vigneron, A. Etcheberry, C. Serre, R. Gref, *Sci. Rep.* **2015**, 5, 7925.
- [156] R. Röß-Ohlenroth, B. Bredenköter, D. Volkmer, *Organometallics* **2019**, 38, 3444.
- [157] H. Bunzen, M. Grzywa, M. Hambach, S. Spirkel, D. Volkmer, *Cryst. Growth Des.* **2016**, 16, 3190.
- [158] T. M. Loehr, R. A. Plane, *Inorg. Chem.* **1968**, 7, 1708.
- [159] P. I. Ravikovitch, A. V. Neimark, *Colloids Surf. A* **2001**, 187-188, 11.
- [160] J. Jagiello, M. Thommes, *Carbon* **2004**, 42, 1227.
- [161] G. G. Z. Zhang, L. X. Yu, R. V. Mantri, Y. Qiu, Y. Chen (Eds.) *Developing solid oral dosage forms. Pharmaceutical theory & practice*, Academic Press, Amsterdam, **2017**.

-
- [162] T. Simon-Yarza, A. Mielcarek, P. Couvreur, C. Serre, *Adv. Mater.* **2018**, 30, e1707365.
- [163] J. Tao, Z. Tan, L. Diao, Z. Ji, J. Zhu, W. Chen, Y. Hu, *RSC Adv.* **2018**, 8, 21735.
- [164] V. Balamurali, T. M. Pramodkuma, N. Srujana, M. P. Venkatesh, N. V. Gupta, K. L. Krishna, H. V. Gangadhara, *Amer. J. Drug Disc. Devel.* **2011**, 1, 24.
- [165] J. Schnabel, R. Ettlinger, H. Bunzen, *ChemNanoMat* **2020**, 6, 1229.
- [166] P. D. C. Dietzel, R. Blom, H. Fjellvåg, *Eur. J. Inorg. Chem.* **2008**, 2008, 3624.
- [167] W. Zhou, H. Wu, T. Yildirim, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130, 15268.
- [168] S. Bhattacharjee, J.-S. Choi, S.-T. Yang, S. B. Choi, J. Kim, W.-S. Ahn, *J. Nanosci. Nanotech.* **2010**, 10, 135.
- [169] P. D. C. Dietzel, B. Panella, M. Hirscher, R. Blom, H. Fjellvåg, *Chem. Comm.* **2006**, 959.
- [170] R. Sanz, F. Martínez, G. Orcajo, L. Wojtas, D. Briones, *Dalton Trans.* **2013**, 42, 2392.
- [171] K. Lee, J. D. Howe, L.-C. Lin, B. Smit, J. B. Neaton, *Chem. Mater.* **2015**, 27, 668.
- [172] E. D. Bloch, L. J. Murray, W. L. Queen, S. Chavan, S. N. Maximoff, J. P. Bigi, R. Krishna, V. K. Peterson, F. Grandjean, G. J. Long, B. Smit, S. Bordiga, C. M. Brown, J. R. Long, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 14814.
- [173] J. N. Hall, P. Bollini, *React. Chem. Eng.* **2019**, 4, 207.
- [174] L. Wang, M. Zheng, Z. Xie, *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 707.
- [175] J. Fang, H. Nakamura, H. Maeda, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2011**, 63, 136.
- [176] B. J. Abu Tarboush, A. Chouman, A. Jonderian, M. Ahmad, M. Hmadeh, M. Al-Ghoul, *ACS Appl. Nano Mater.* **2018**, 1, 3283.
- [177] W. Yu, M. Luo, Y. Yang, H. Wu, W. Huang, K. Zeng, F. Luo, *J. Solid State Chem.* **2019**, 269, 264.
- [178] N. Y. Dzade, A. Roldan, N. H. de Leeuw, *Environ. Sci. Technol.* **2017**, 51, 3461.
- [179] H. A. Szymanski, L. Marabella, J. Hoke, J. Harter, *Appl. Spectrosc.* **1968**, 22, 297.
- [180] A. Whitaker, *Acta Cryst.* **1975**, 31, 2026.
- [181] R. Ettlinger, N. Moreno, D. Volkmer, K. Kerl, H. Bunzen, *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 13189.
- [182] J. Siepmann, R. A. Siegel, M. J. Rathbone, *Fundamentals and Applications of Controlled Release Drug Delivery*, Springer US, Boston, MA, **2012**.
- [183] J. Liu, Y. Huang, A. Kumar, A. Tan, S. Jin, A. Mozhi, X.-J. Liang, *Biotechnol. Adv.* **2014**, 32, 693.
- [184] Y. Pan, Y. Liu, G. Zeng, L. Zhao, Z. Lai, *Chem. Comm.* **2011**, 47, 2071.
- [185] M. Jian, B. Liu, G. Zhang, R. Liu, X. Zhang, *Colloids Surf. A* **2015**, 465, 67.
- [186] P. Couvreur, R. Gref, K. Andrieux, C. Malvy, *Prog. Solid State Chem.* **2006**, 34, 231.
- [187] M. Wu, X. Guo, F. Zhao, B. Zeng, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 8912.
- [188] E. Song, A. Gaudin, A. R. King, Y.-E. Seo, H.-W. Suh, Y. Deng, J. Cui, G. T. Tietjen, A. Huttner, W. M. Saltzman, *Nat. Commun.* **2017**, 8, 15322.
- [189] J. Wang, J. Sun, Q. Sun, Q. Chen, *Mat. Res. Bull.* **2003**, 38, 1113.
- [190] P. Anastas, N. Eghbali, *Chem. Soc. Rev.* **2010**, 39, 301.

- [191] G. Kickelbick, P. Wiede, U. Schubert, *Inorg. Chim. Acta* **1999**, 284, 1.
- [192] R. Ettlinger, N. Moreno, N. Ziolkowska, A. Ullrich, H.-A. Krug von Nidda, D. Jiráček, K. Kerl, H. Bunzen, *Part. Part. Syst. Charact.* **2020**, 35, 2000185.
- [193] A. Goodarzi, Y. Sahoo, M.T. Swihart, P.N. Prasad, *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* **2004**.
- [194] F. Xiao, C. Feng, C. Jin, X. Liu, Le Pan, A. Xia, *Materials Letters* **2014**, 122, 103.
- [195] S.-L. Cao, H. Xu, L.-H. Lai, W.-M. Gu, P. Xu, J. Xiong, H. Yin, X.-H. Li, Y.-Z. Ma, J. Zhou, M.-H. Zong, W.-Y. Lou, *Bioresour. Bioprocess.* **2017**, 4, 539.
- [196] Y.-M. Huh, Y.-W. Jun, H.-T. Song, S. Kim, J.-S. Choi, J.-H. Lee, S. Yoon, K.-S. Kim, J.-S. Shin, J.-S. Suh, J. Cheon, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 12387.
- [197] X. Huang, C. S. Brazel, *J Control Release* **2001**, 73, 121.
- [198] W. Cai, J. Wang, C. Chu, W. Chen, C. Wu, G. Liu, *Adv. Sci.* **2019**, 6, 1801526.
- [199] T. Kalliokoski, C. Kramer, A. Vulpatti, P. Gedeck, *PloS One* **2013**, 8, e61007.

A. Anhang – Kapitel 5.1

A.1. Charakterisierung von MFU-4l, MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂

A.1.1. Dynamische Lichtstreuung

Tabelle A1: DLS-Daten von nicht beschichteten und PEG-beschichteten MFU-4l-Nanopartikeln, die in demineralisiertem Wasser dispergiert sind. Die Daten sind als Median für die Zahlenverteilungen (Dn50) mit einem in Klammern angegebenen Polydispersitätsindex (PDI) dargestellt. Nach weniger als 24 h beginnen die nicht beschichteten Nanopartikel zu agglomerieren, während die funktionalisierten Partikel ihre kolloidale Stabilität behalten.

Zeit	Nicht-beschichtete Nanopartikel	PEG-beschichtete Nanopartikel
	Dn50 (PDI)	Dn50 (PDI)
Nach der Dispersion	116,1 nm (0,229)	109.0 nm (0,220)
Nach 2 h	119,2 nm (0,218)	110,5 nm (0,209)
Nach 4 h	118,2 nm (0,219)	106.9 nm (0,206)
Nach 24 h	270,6 nm (0,332)	107.0 nm (0,228)
Nach 48 h	> 500 nm	111.6 nm (0,218)

A.1.2. Sorptionsanalyse

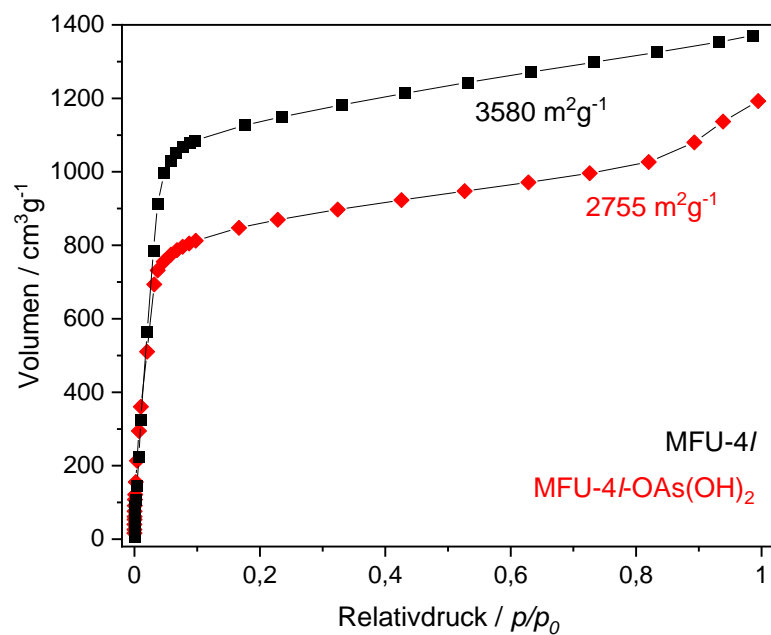


Abbildung A1: Argon-Adsorptionsisothermen für MFU-4l (schwarz) und MFU-4l-OAs(OH)₂ (rot) bei 77 K.

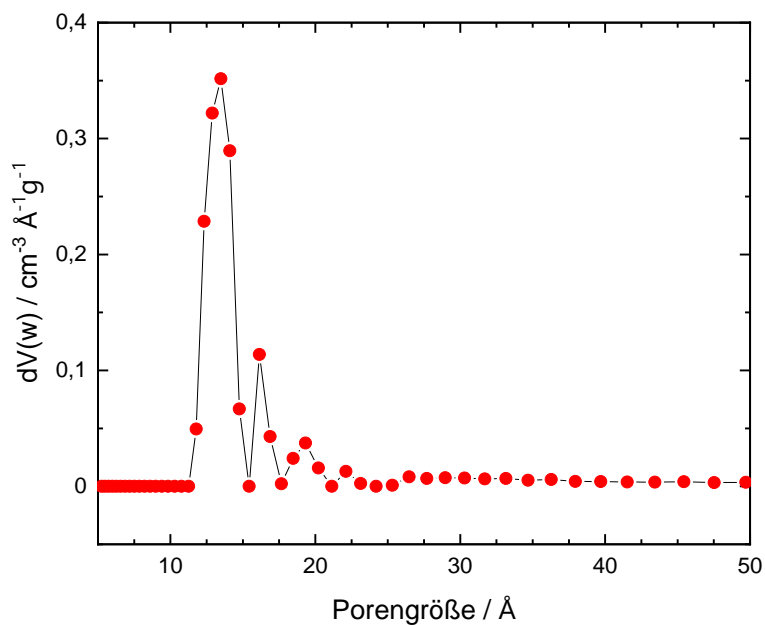


Abbildung A2: Porengrößenverteilung für MFU-4l-OAs(OH)₂, berechnet durch Anpassung von NLDFT-Modellen an die Argon-Adsorptionsdaten.

A.1.3. Temperaturabhängige Pulverdiffraktometrie

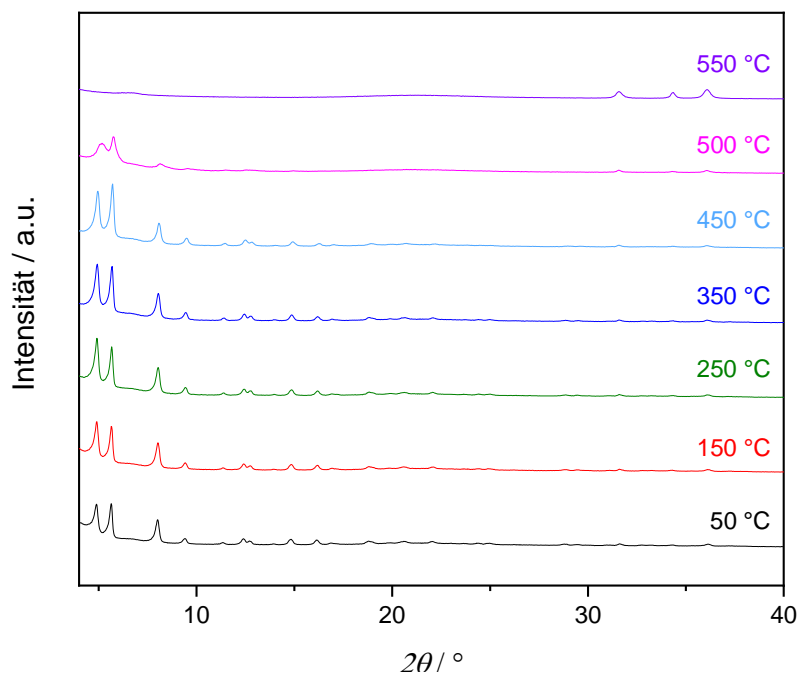


Abbildung A3: Temperaturabhängige Röntgenpulverdiffraktogramme von MFU-4l-OAs(OH)₂ im Bereich von 50-550 °C (Probe einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

A.1.4. Thermogravimetrische Analyse

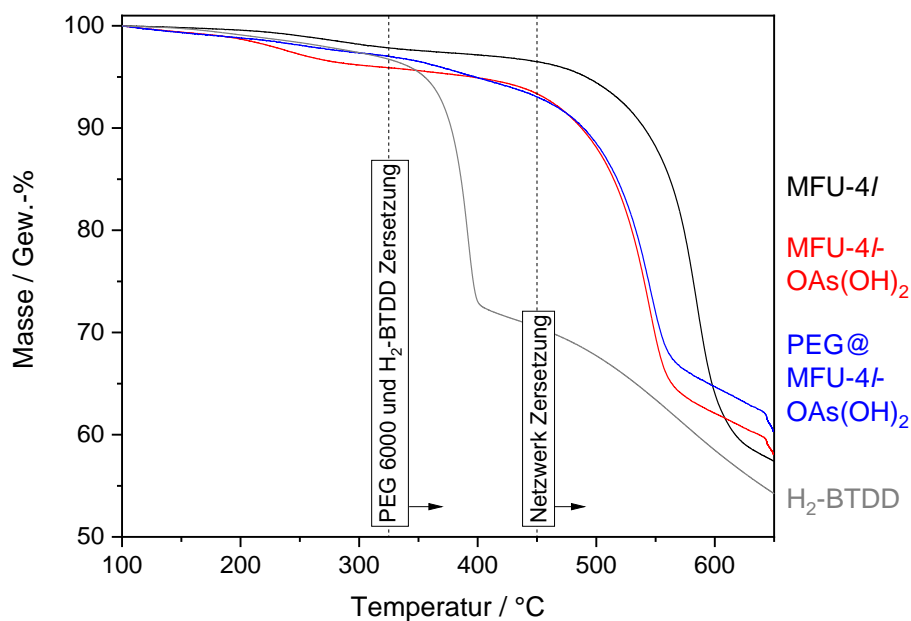


Abbildung A4: Thermogravimetrische Analyse von ausgeheizten MFU-4l-Nanopartikeln (schwarz), MFU-4l-OAs(OH)₂ (rot), PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ Nanopartikeln (blau) und H₂-BTDD (grau) (Probe einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

A.1.5. FT-IR-Spektroskopie

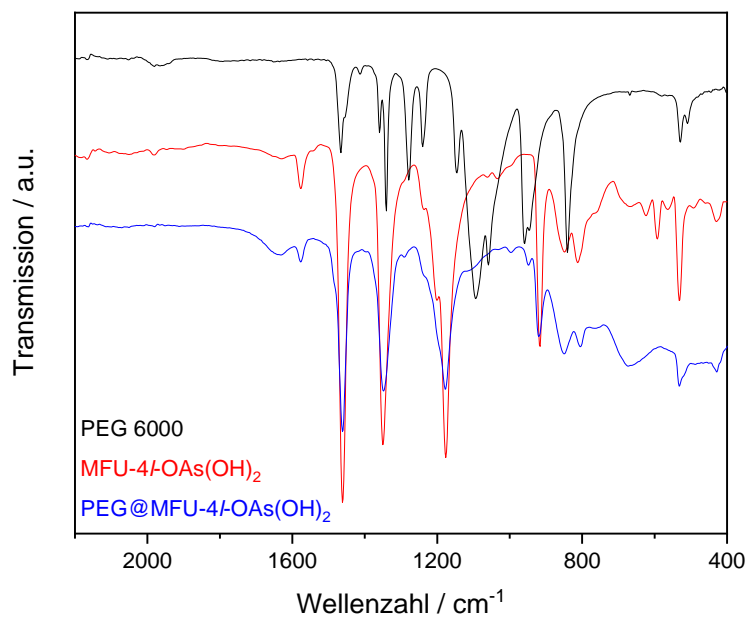


Abbildung A5: Vergleich der IR-Spektren von PEG 6000 (schwarz), MFU-4l-OAs(OH)₂ (rot) und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (blau) im Bereich von 2200 bis 400 cm⁻¹.

A.2. Quantenmechanische Rechnungen

A.2.1. Modell-Komplexe

DFT-Rechnungen wurden an drei Modell-Komplexen durchgeführt, die Zinkionen in einer tetraedrischen Koordinationsumgebung aufweisen, welche strukturell analog zu den Zinkionen in der sekundären Baueinheit von MFU-4l sind. Alle DFT-Rechnungen wurden mit DMol³ durchgeführt, das Bestandteil des BIOVIA Materials Studio Rel. 2018 ist.^[146,147] Die Geometrie der Komplexe wurde vollständig verfeinert [PBE-GGA mit Singulett-Spin-Beschränkung, numerischer All-Elektronen DNP-Basisatz (4.4 Basis)]. Die Modelle sind in **Abbildung A6** dargestellt und beinhalteten [ZnCl(Tp)] (Tp = Trispyrazolylborat-Ligand) und [Zn(OAs(OH)₂)(Tp)] mit drei verschiedenen Arsenit-Bindungsmodi (einschließlich einer tautomeren Zn-As-gebundenen Spezies). Die Schwingungsfrequenzen wurden aus geometrischen Verschiebungen der vollständig konvergierten Atomlagen ermittelt. Keines der Modelle wies imaginäre (negative) Frequenzen auf. Die thermodynamischen Eigenschaften wurden aus der Frequenzanalyse berechnet, wodurch die relativen Energien der drei verschiedenen Arsenit-Koordinationsmodi verglichen werden konnten.

Tabelle A2: Vergleich der Gesamtenergie E_t und der Enthalpie von [ZnCl(Tp)] und [Zn(OAs(OH)₂)(Tp)] mit drei verschiedenen Arsenit-Bindungsmodi.

Model	Gesamtenergie E_t	Enthalpie (298,15 K inkl. ZPVE)
	/ Ha	/ kcal mol ⁻¹
[ZnCl(Tp)]	-2941,1548339	134,805
Model A: [Zn(-As(=O)(OH) ₂)(Tp)]	-4943,452746	156,074
Model B: [Zn(O-AsH(=O)(-OH)(Tp)]	-4943,437371	155,739
Model C: [Zn(O-As(-OH) ₂)(Tp)]	-4943,484229	156,340

Das Strukturmodell C erwies sich als das stabilste unter den modellierten verschiedenen Arsenit-gebundenen Komplexen. Daher wurde dieser Koordinationsmodus in ein periodisches 3D-Modell des Arsenit-ausgetauschten MFU-4l übertragen.

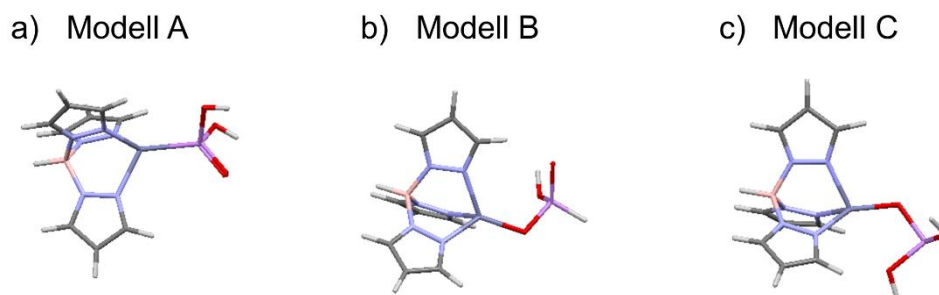


Abbildung A6: Modellierte Strukturen von $[\text{Zn}(\text{OAs}(\text{OH})_2)(\text{Tp})]$ mit drei verschiedenen Arsenit-Bindungsmodi (Modell A, B und C).

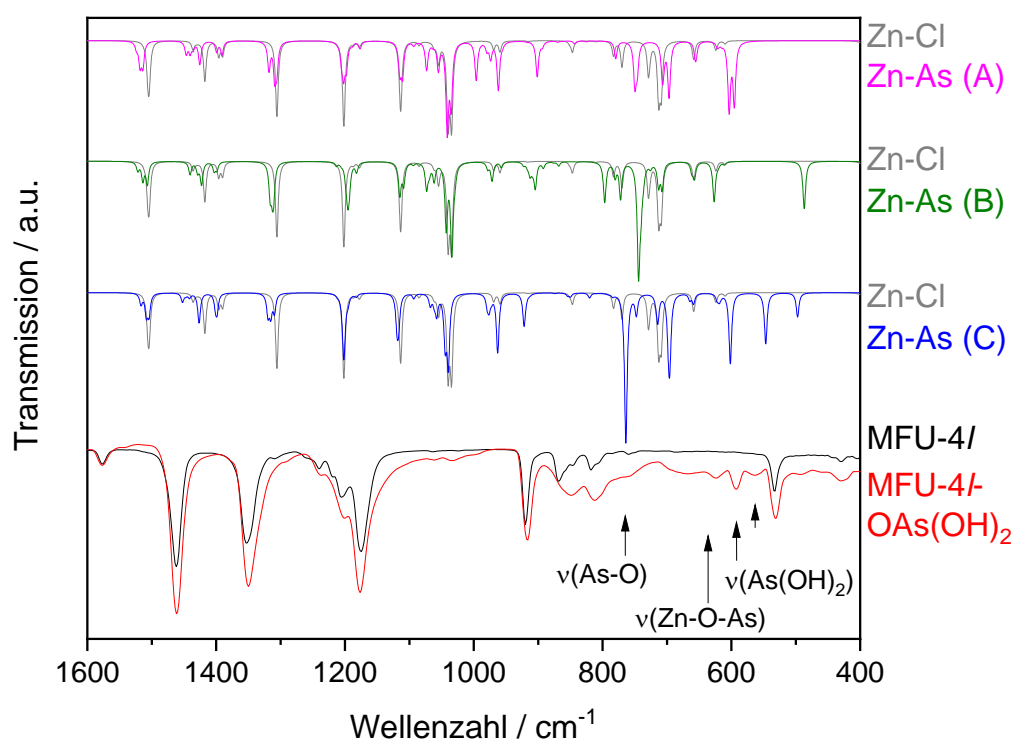


Abbildung A7: Modellierte FT-IR-Spektren der $[\text{Zn}(\text{OAs}(\text{OH})_2)(\text{Tp})]$ -Komplexe: A (magenta), B (grün) und C (blau) im Vergleich zu gemessenen FT-IR-Spektren von MFU-4l (schwarz) und MFU-4l- $\text{OAs}(\text{OH})_2$ (rot) im Bereich von 1600 bis 400 cm^{-1} .

A.2.2. Periodische Gittermodell-Berechnungen

Eine DFT-Rechnung an einem Arsenit-ausgetauschten 3D-periodischem Gittermodell von MFU-4l- $(\text{O-As}(\text{-OH})_2)$ wurde mit CASTEP als Bestandteil von BIOVIA Materials Studio Rel. 2018 durchgeführt.^[148] Die Geometrie des Kristallgitters wurde unter Verwendung von Plane-Wave-DFT-Rechnungen (PBE-GGA, Norm-erhaltende Pseudopotentiale mit einer auf die Plane-Wave-Basis eingestellten Energieobergrenze von 830 eV) vollständig optimiert. Die Rechnungen wurden in der primitiven Repräsentation der konventionellen raumzentrierten

tetragonalen Zelle zu der Raumgruppe $I4/m$ (Nr. 87) durchgeführt. Die tetragonale Aufstellung sollte die höchstmögliche kristallographische Symmetrie von Arsenit-ausgetauschtem MFU-4l darstellen, das selbst in einem kubischen Kristallsystem kristallisiert (Raumgruppe $Fm\bar{3}m$, Nr. 225). Ausgewählte Eigenschaften der tetragonalen Zelle von MFU-4l-(O-As(-OH)₂) sind in **Tabelle A4** dargestellt. Die Schwingungsfrequenzen wurden aus linearen Antwortfunktionsrechnungen, basierend auf dem vollständig konvergierten Gittermodell erhalten. Ausgewählte berechnete Frequenzen sind in **Tabelle A3** zusammen mit einer Zuordnung der Charakteristika der lokalisierten Schwingungsmoden dargestellt.

Tabelle A3: Zusätzliche Schwingungsfrequenzen, die im modellierten IR-Spektrum von MFU-4l-OAs(OH)₂ im Vergleich zum modellierten IR-Spektrum von MFU-4l beobachtet wurden (beide in **Abbildung 5.4** dargestellt).

Schwingungsfrequenz / cm ⁻¹	Schwingungsmoden
480	H-O-As Winkeldeformation
579, 616, 617	(HO)-As Streckschwingung
784	Zn-As Streckschwingung
940, 950	As-O-H Kombinationsschwingung
1235	C-H-Ligandendeformation
3067	C-H-Streckschwingung
3575, 3598	O-H-Streckschwingung (AsOH)

Tabelle A4: Übersicht der Kristallstrukturdaten von MFU-4l und MFU-4l-OAs(OH)₂.

	MFU-4l gemessen	MFU-4l-OAs(OH) ₂ simuliert
Empirische Formel	C ₃₆ Cl ₄ N ₁₈ H ₁₂ O ₆ Zn ₅	As ₄ C ₃₆ N ₁₈ H ₂₀ O ₁₈ Zn ₅
Formelgewicht / g mol ⁻¹	1261,32	1619,39
Kristallsystem	kubisch	tetragonal
Raumgruppe	$Fm\bar{3}m$ (no. 225)	$I4/m$ (no. 87)
a / Å	31,0569	22,3607
c / Å		31,9284
V / Å ³	29955,2	15964,23 ³

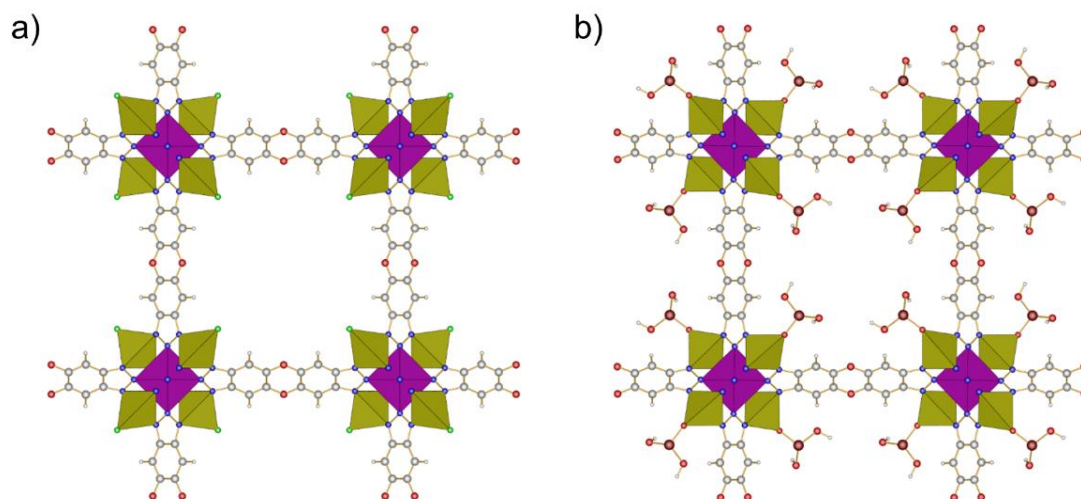


Abbildung A8: Vergleich der Kristallstruktur von (a) MFU-4l und (b) MFU-4l-OAs(OH)₂. (As: dunkelrot; C: grau; Cl: grün; H: weiß; O: rot; N: blau; Zn-basierte Oktaeder: violett; Zn-basierte Tetraeder: gelb).

A.3. Wirkstoff-Freisetzung und MOF Stabilitätsstudien

A.3.1. Wirkstoff-Freisetzung

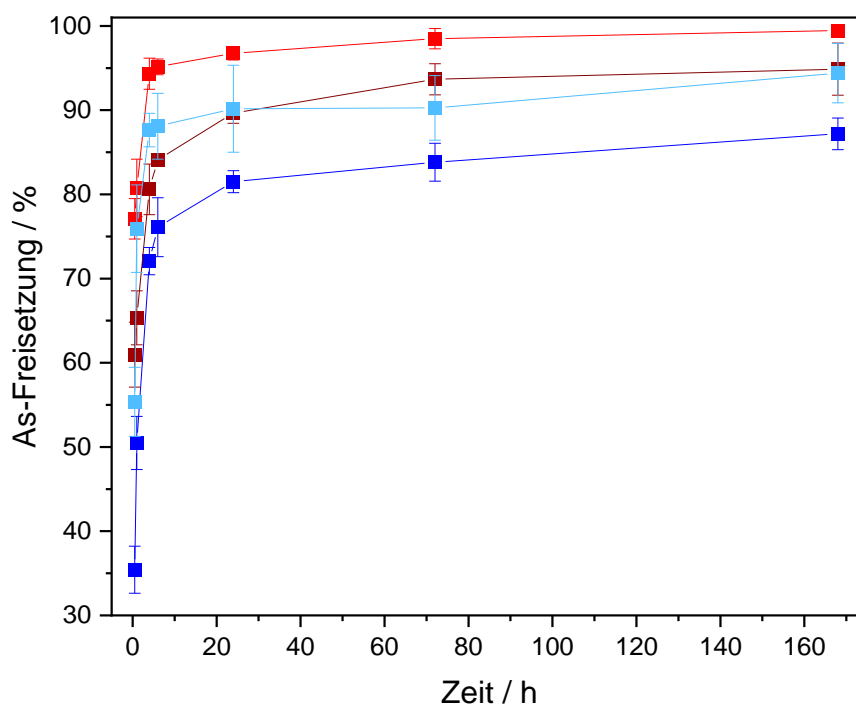


Abbildung A9: Arsen-Freisetzung aus MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ bei pH 6 (rot, hellblau) und pH 7,4 (dunkelrot, dunkelblau) in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei 37 °C; bestimmt durch ICP-OES.

Tabelle A5: Menge an Arsen in %, die aus MFU-4l-OAs(OH)₂ und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ in eine phosphatgepufferten Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wurde; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 6 (PEG-beschichtet)	pH 7,4	pH 7,4 (PEG-beschichtet)
0,5 h	77,1 ± 2,4	55,4 ± 4,1	60,9 ± 3,8	35,4 ± 2,8
1 h	80,8 ± 3,4	75,9 ± 5,1	65,3 ± 3,2	50,5 ± 3,2
4 h	94,3 ± 1,8	87,6 ± 2,0	80,6 ± 3,0	72,0 ± 1,6
6 h	95,1 ± 0,9	88,1 ± 3,9	84,1 ± 0,7	76,1 ± 3,5
24 h	96,8 ± 0,8	90,2 ± 4,9	89,6 ± 1,2	81,5 ± 1,3
72 h	98,5 ± 1,2	90,3 ± 3,8	93,7 ± 1,8	83,8 ± 2,2
168 h	99,5 ± 0,5	94,4 ± 3,5	94,9 ± 3,0	87,2 ± 1,8

A.3.2. MOF-Stabilität in einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung

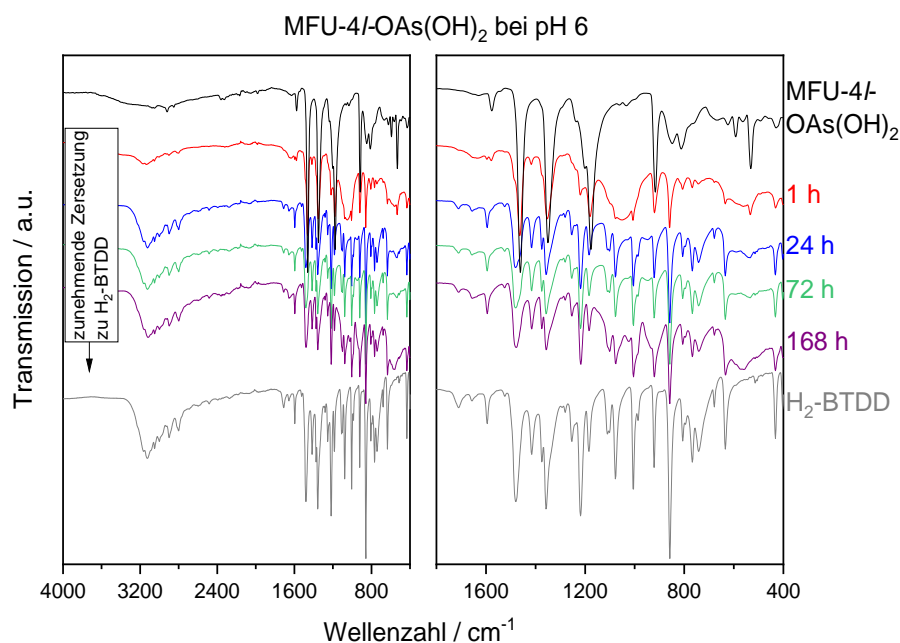


Abbildung A10: FT-IR-Spektren von MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz) und MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) und H₂-BTDD (grau) durchgeführt wurden, dargestellt im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹ und von 1800 bis 400 cm⁻¹.

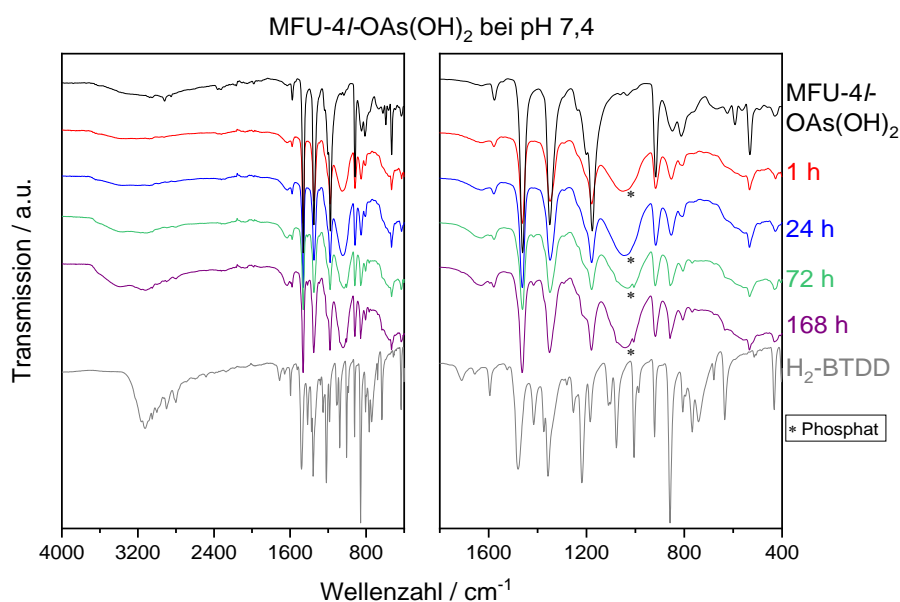


Abbildung A11: FT-IR-Spektren von MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz) und MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) und H₂-BTDD (grau) durchgeführt wurden, dargestellt im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹ und von 1800 bis 400 cm⁻¹.

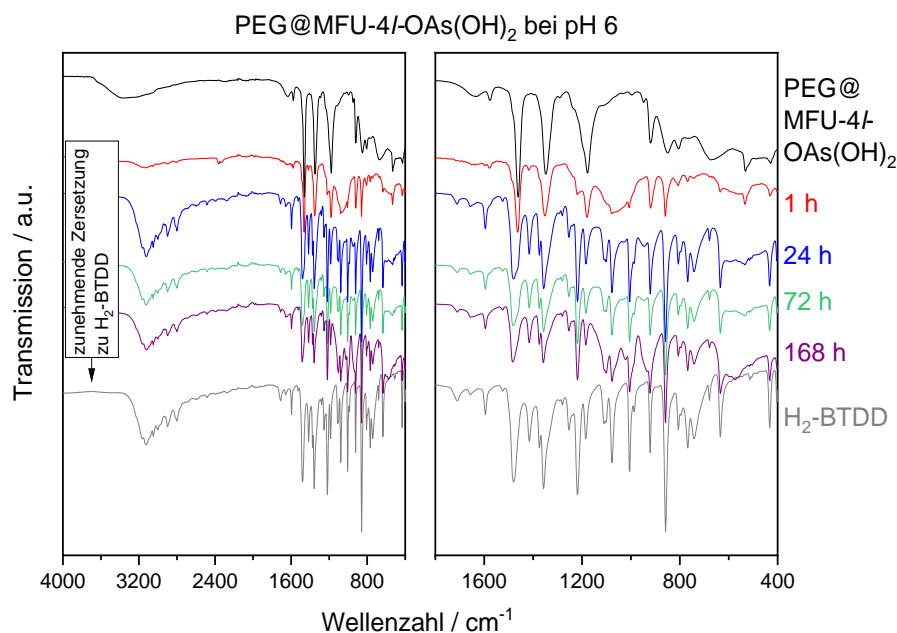


Abbildung A12: FT-IR-Spektren von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz) und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) und H₂-BTDD (grau) durchgeführt wurden, dargestellt im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹ und von 1800 bis 400 cm⁻¹.

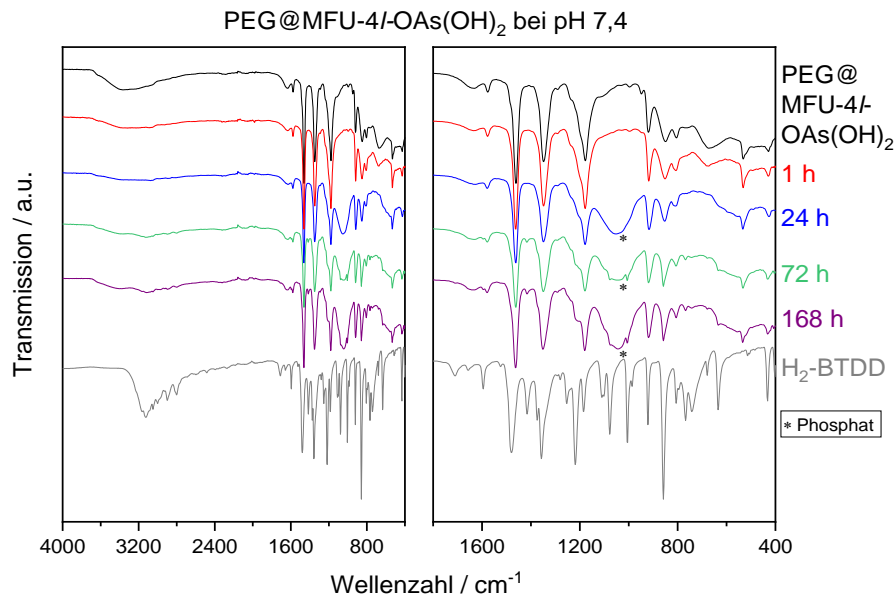


Abbildung A13: FT-IR-Spektren von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz) und PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) und H₂-BTDD (grau) durchgeführt wurden, dargestellt im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹ und von 1800 bis 400 cm⁻¹.

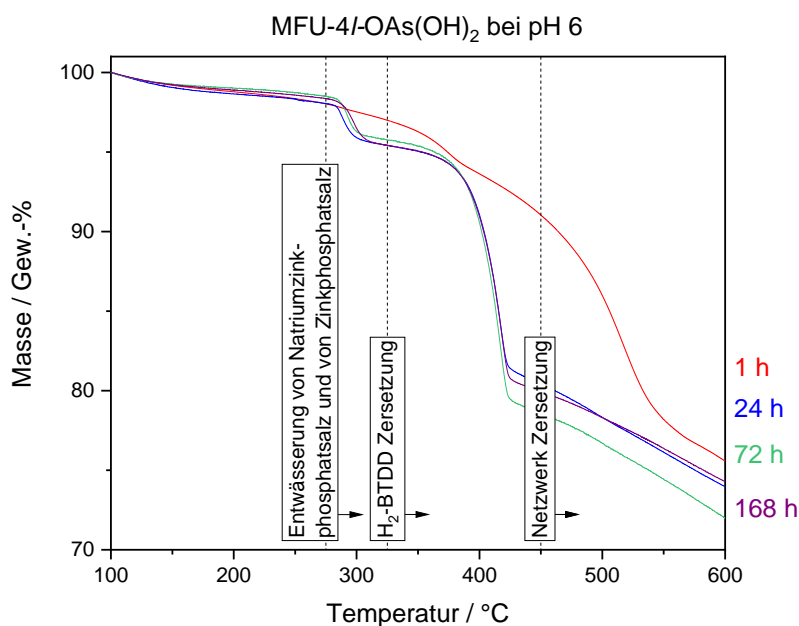


Abbildung A14: Thermogravimetrische Analyse von MFU-4/-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführt wurden (die Proben wurden bei 100 °C für 3 h aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

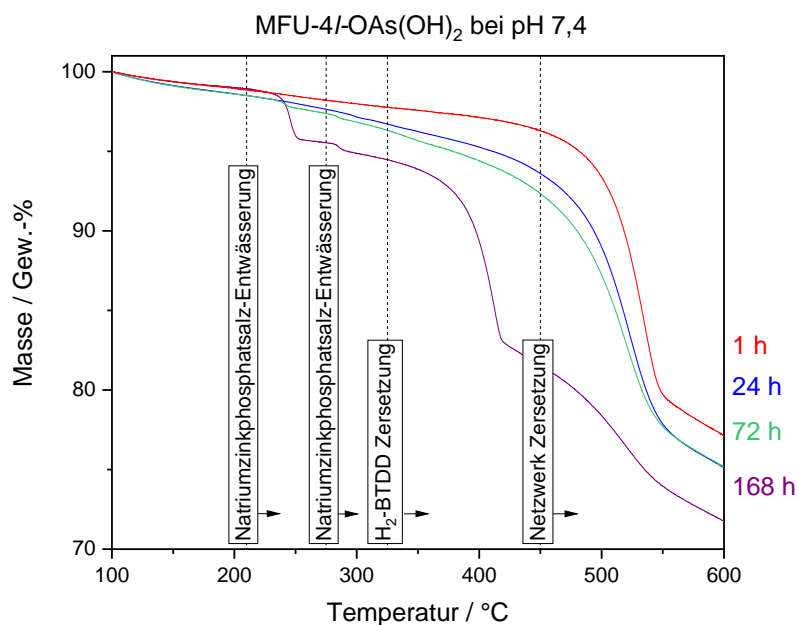


Abbildung A15: Thermogravimetrische Analyse von MFU-4/-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführt wurden (die Proben wurden bei 100 °C für 3 h aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

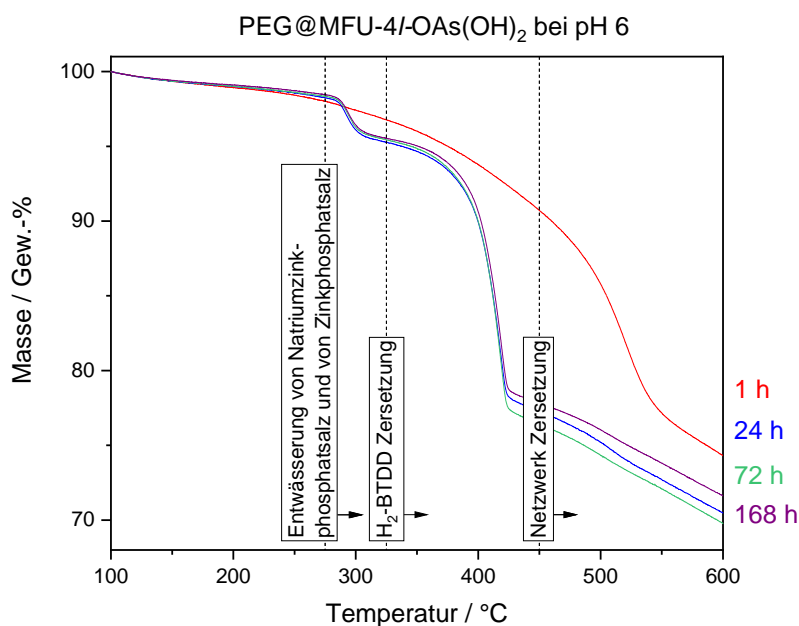


Abbildung A16: Thermogravimetrische Analyse von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführt wurden (die Proben wurden bei 100 °C für 3 h aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

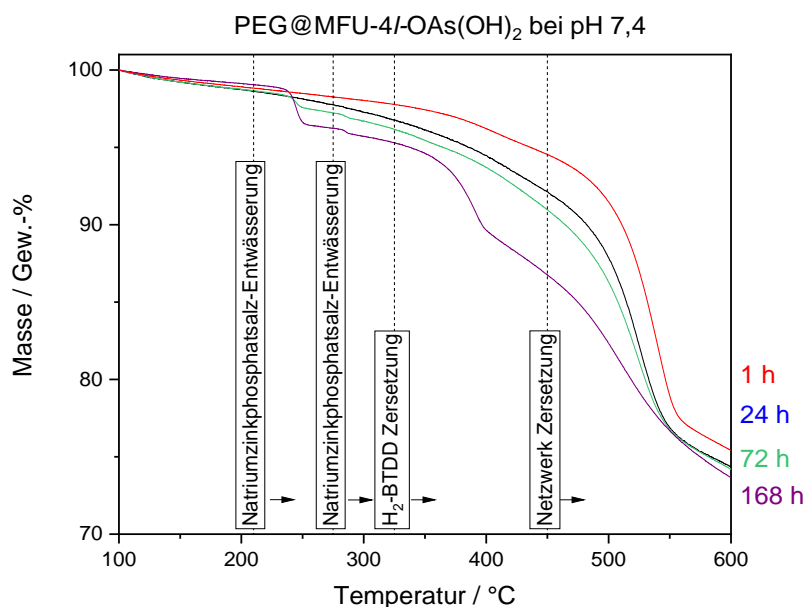


Abbildung A17: Thermogravimetrische Analyse von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführt wurden (die Proben wurden bei 100 °C für 3 h aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

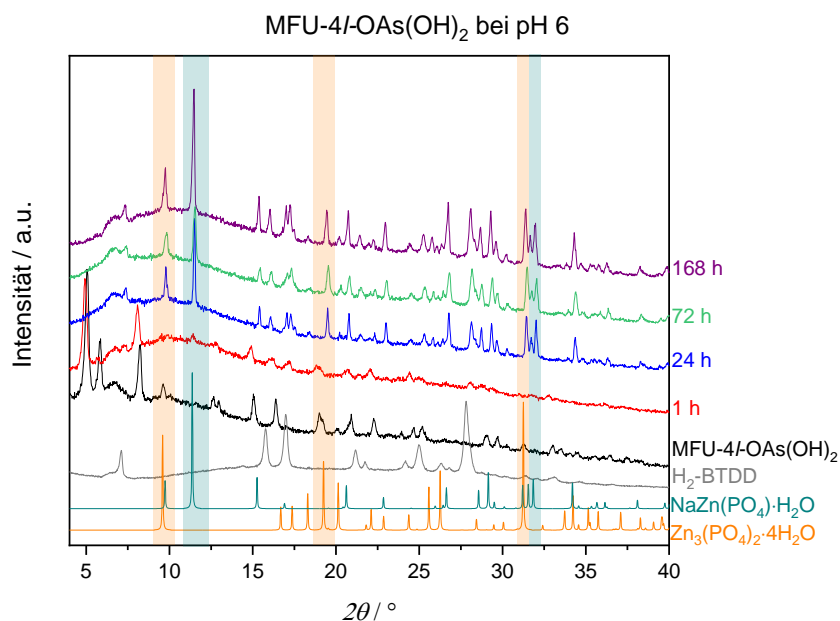


Abbildung A18: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz), MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und H₂-BTDD (grau) und den berechneten Röntgenpulverdiffraktogrammen von Zn₃(PO₄)₂·4H₂O (orange, CSD: 18145) und NaZn(PO₄)·H₂O (türkis, CSD: 81368).

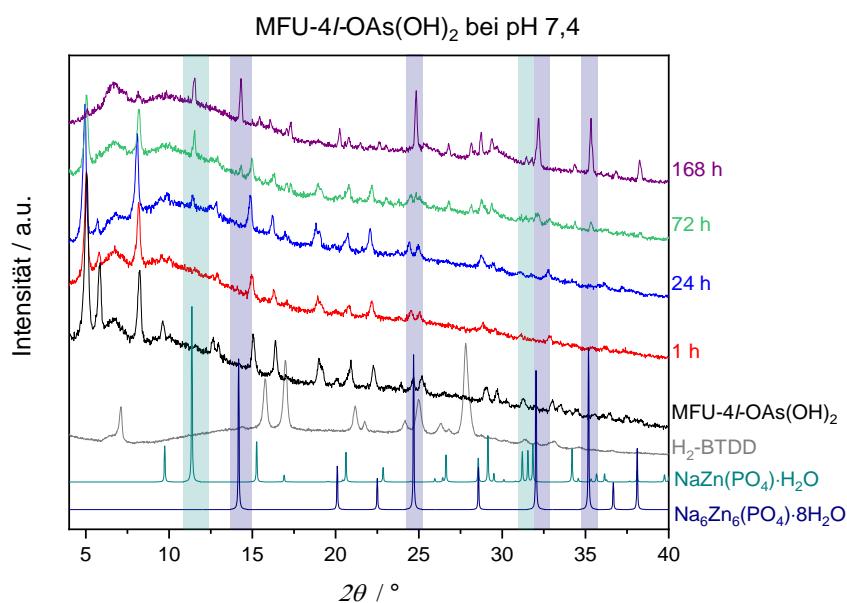


Abbildung A19: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz), MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und H₂-BTDD (grau) und den berechneten Röntgenpulverdiffraktogrammen von NaZn(PO₄)·H₂O (türkis, CSD: 81368) und Na₆Zn₆(PO₄)·8H₂O (dunkelblau, CSD: 56499).

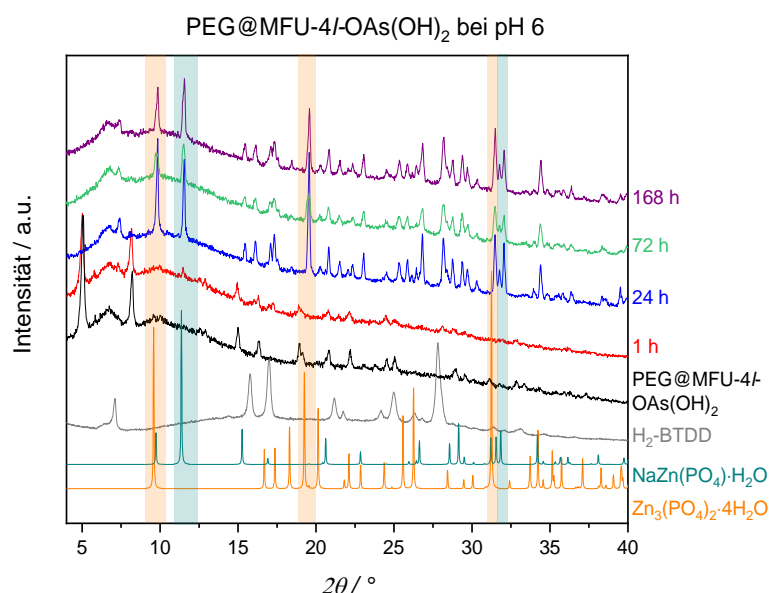


Abbildung A20: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz), PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und H₂-BTDD (grau) und den berechneten Röntgenpulverdiffraktogrammen von Zn₃(PO₄)₂·4H₂O (orange, CSD: 18145) und NaZn(PO₄)·H₂O (türkis, CSD: 81368).

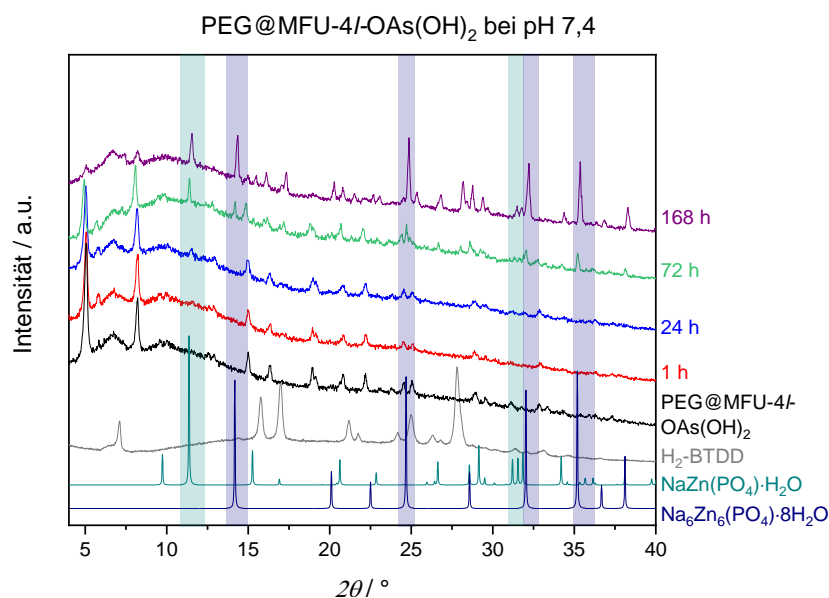


Abbildung A21: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ (schwarz), PEG@MFU-4l-OAs(OH)₂ nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 72 h (grün) und 168 h (violett) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und H₂-BTDD (grau) und den berechneten Röntgenpulverdiffraktogrammen von NaZn(PO₄)·H₂O (türkis, CSD: 81368) und Na₆Zn₆(PO₄)·8H₂O (dunkelblau, CSD: 56499).

A.4. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

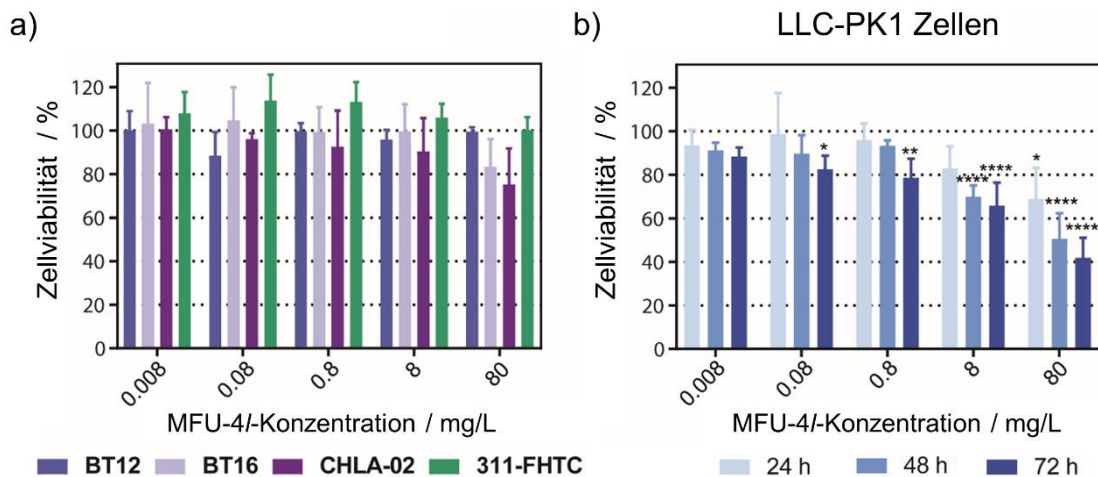


Abbildung A22: Zellviabilität von (a) verschiedenen ATRT-Zelllinien nach 72 h und (b) LLC-PK1-Zellen nach 24 h, 48 h und 72 h Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen von MFU-4I. Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt ($n \geq 3$). (ANOVA one-way, * bedeutet $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, **** $p \leq 0,0001$).

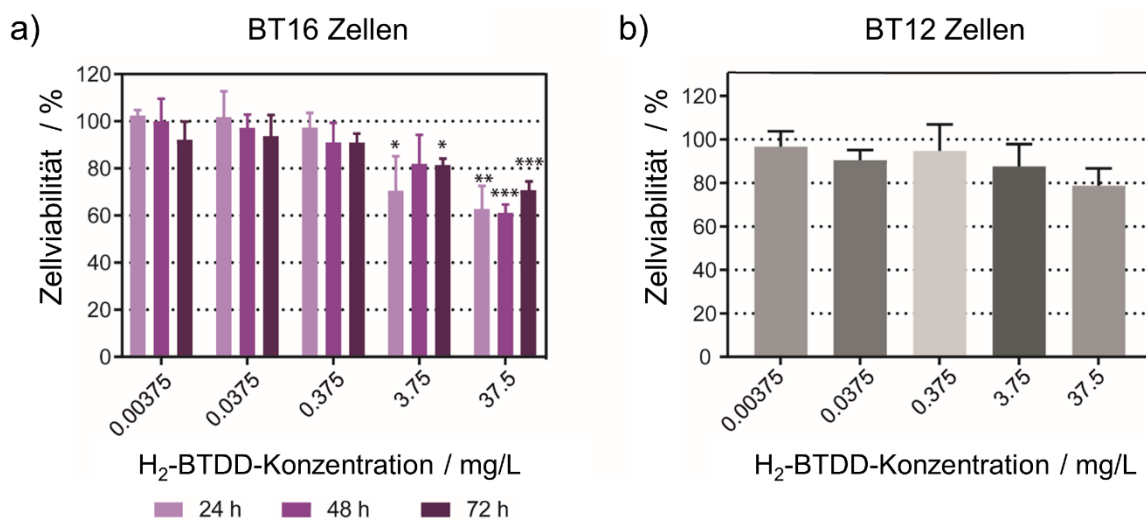


Abbildung A23: Zellviabilität von (a) BT16-Zellen nach 24 h, 48 h, 72 h und (b) BT12-Zellen nach 72 h Inkubation mit verschiedenen Konzentrationen von H₂-BTDD. Die Daten sind als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt ($n \geq 3$). (ANOVA one-way, * bedeutet $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,001$).

B. Anhang – Kapitel 5.2

B.1. Charakterisierung von arsenfreiem und arsenhaltigem Zn-MOF-74

B.1.1. Thermogravimetrische Analyse

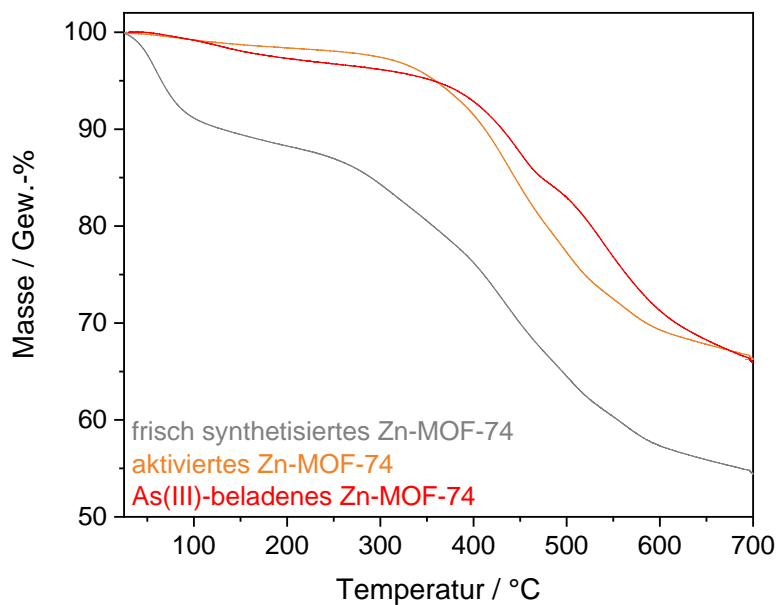


Abbildung B1: Thermogravimetrische Analyse von Zn-MOF-74 Nanopartikeln: Frisch synthetisiert (grau), ausgeheizt (orange) und nach der Arsen-Beladung (rot) (Probe einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

B.1.2. Beladungsstudien

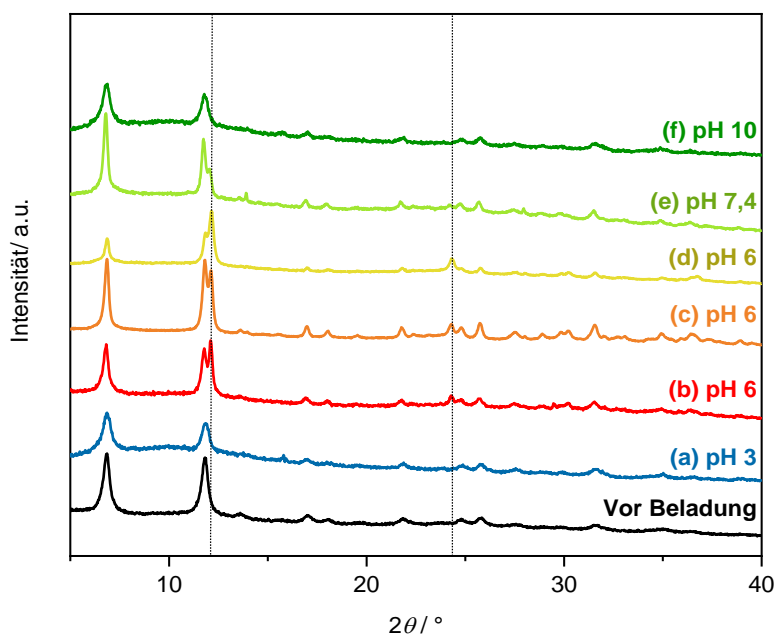


Abbildung B2: Röntgenpulverdiffraktogramme von Zn-MOF-74 nach der Arsen-Beladung bei verschiedenen Bedingungen: (a) pH 3, 1,5 h (blau); (b) pH 6, 1,5 h (rot); (c) pH 6, 4 h (orange); (d) pH 6, 24 h (gelb); (e) pH 7,4, 1,5 h (hellgrün); (f) pH 10, 1,5 h (grün). Die gepunktete Linie markiert neue Reflexe bei 12,07 und 24,20°.

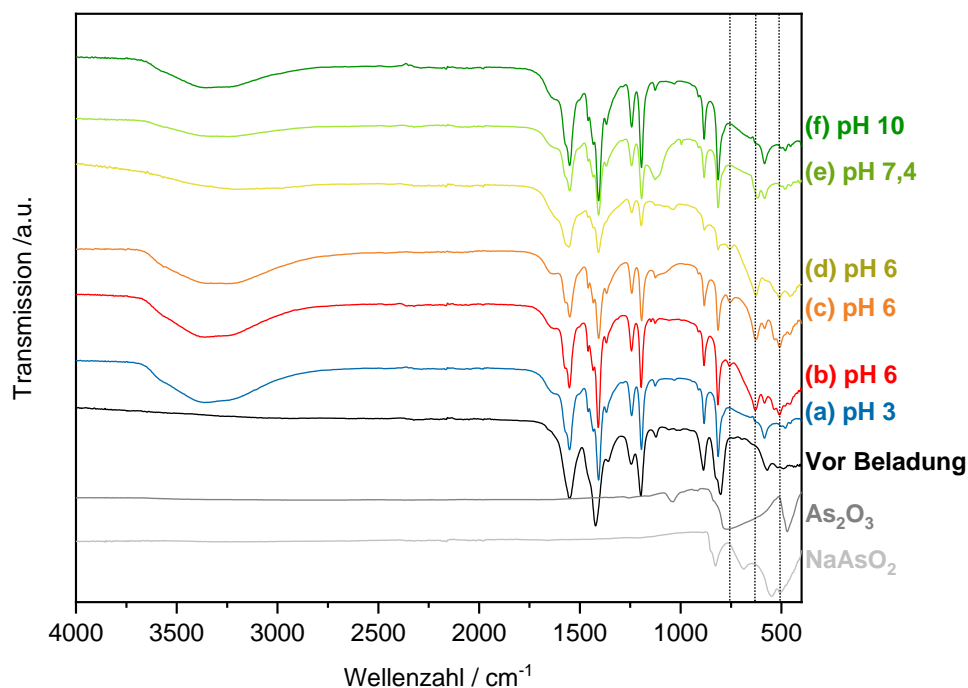


Abbildung B3: FT-IR-Spektren von Zn-MOF-74 nach der Arsen-Beladung bei verschiedenen Bedingungen: (a) pH 3, 1,5 h (blau); (b) pH 6, 1,5 h (rot); (c) pH 6, 4 h (orange); (d) pH 6, 24 h (gelb); (e) pH 7,4, 1,5 h (hellgrün); (f) pH 10, 1,5 h (grün). Die gepunktete Linie markiert neue Banden bei 759, 630 und 510 cm⁻¹.

B.1.3. Sorptionsanalyse

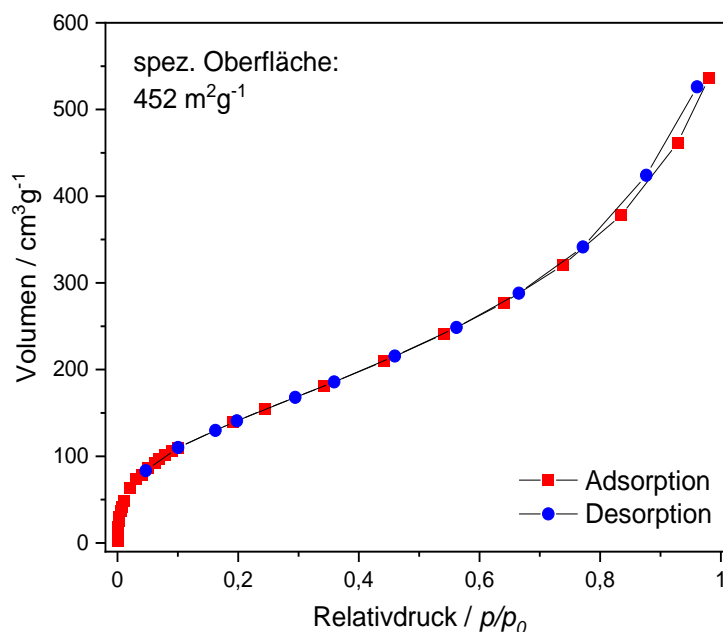


Abbildung B4: Argon-Adsorptionsisothermen von Zn-MOF-74 nach der Arsen-Beladung bei 77 K.

B.2. Wirkstoff-Freisetzung und MOF Stabilitätsstudien

B.2.1. Wirkstoff-Freisetzung

Tabelle B1: Menge an Arsen (%), die aus arsenhaltigem Zn-MOF-74 in eine phosphatgepufferte Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wird; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 7,4
1 h	20,4 ± 1,9	10,8 ± 1,0
4 h	41,6 ± 4,0	22,0 ± 0,5
6 h	58,4 ± 3,8	26,2 ± 0,6
24 h	94,3 ± 3,9	51,4 ± 1,0
48 h	99,5 ± 2,6	64,3 ± 1,3
72 h	99,4 ± 3,8	69,1 ± 1,1
168 h	100,0 ± 2,9	74,9 ± 2,6

B.2.2. MOF-Stabilität in einer phosphatgepufferter Kochsalzlösung

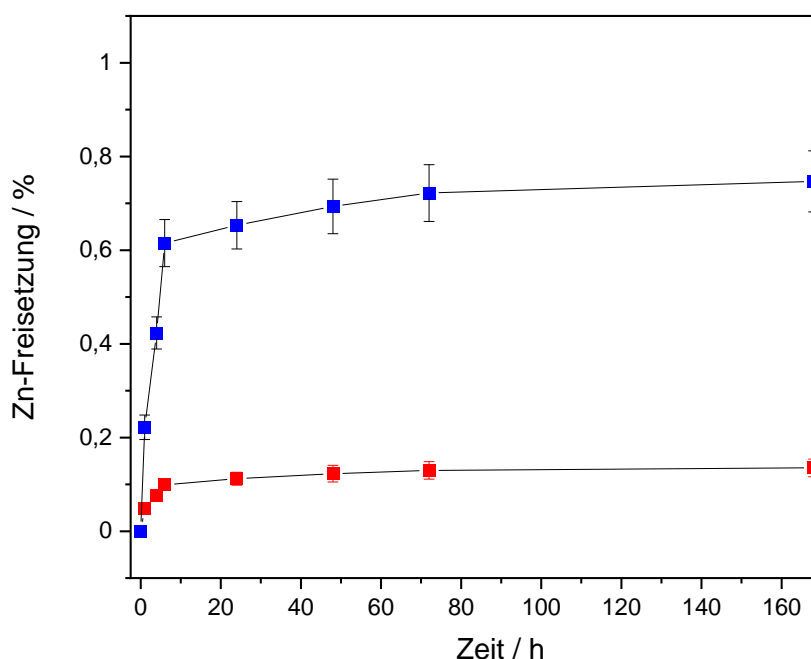


Abbildung B5: Zink-Freisetzung aus arsenhaltigem Zn-MOF-74 bei pH 6 (blau) und 7,4 (rot) bei 37 °C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung; bestimmt durch ICP-OES.

Tabelle B2: Menge an Zink (%), die aus arsenhaltigem Zn-MOF-74 in eine phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wird; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 7,4
1 h	0,22 ± 0,03	0,05 ± 0,01
4 h	0,42 ± 0,03	0,08 ± 0,01
6 h	0,61 ± 0,05	0,10 ± 0,01
24 h	0,65 ± 0,05	0,11 ± 0,01
48 h	0,69 ± 0,06	0,12 ± 0,02
72 h	0,72 ± 0,06	0,13 ± 0,02
168 h	0,75 ± 0,07	0,14 ± 0,02

C. Anhang – Kapitel 5.3

C.1. Charakterisierung von ZIF-8, As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8

C.1.1. Transmissionselektronenmikroskopie

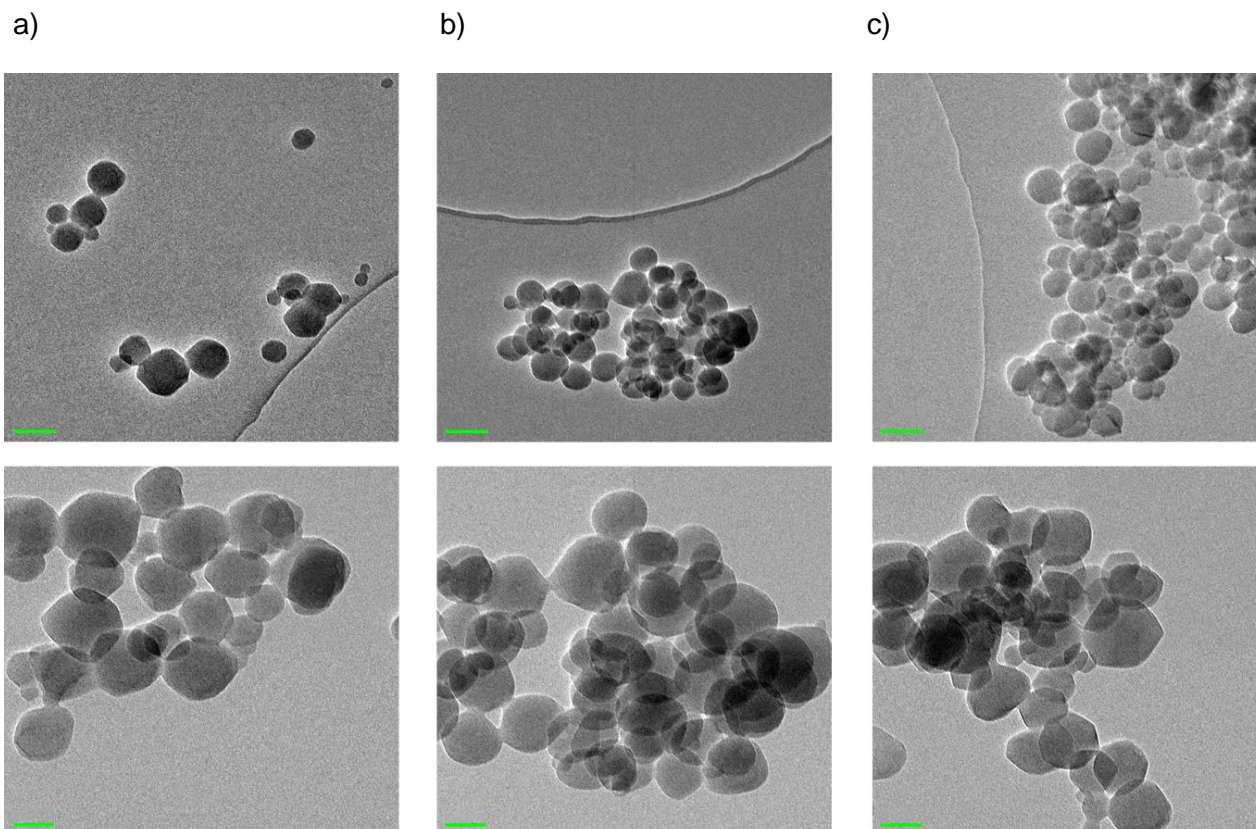


Abbildung C1: TEM-Aufnahmen von ZIF-8-Nanopartikeln (a) vor und (b) nach der Wirkstoff-Beladung und (c) nach der Beschichtung mit PEG-NH₂; Maßstabsbalken: 100 nm (obere Linie), 50 nm (untere Linie).

C.1.2. FT-IR-Spektroskopie

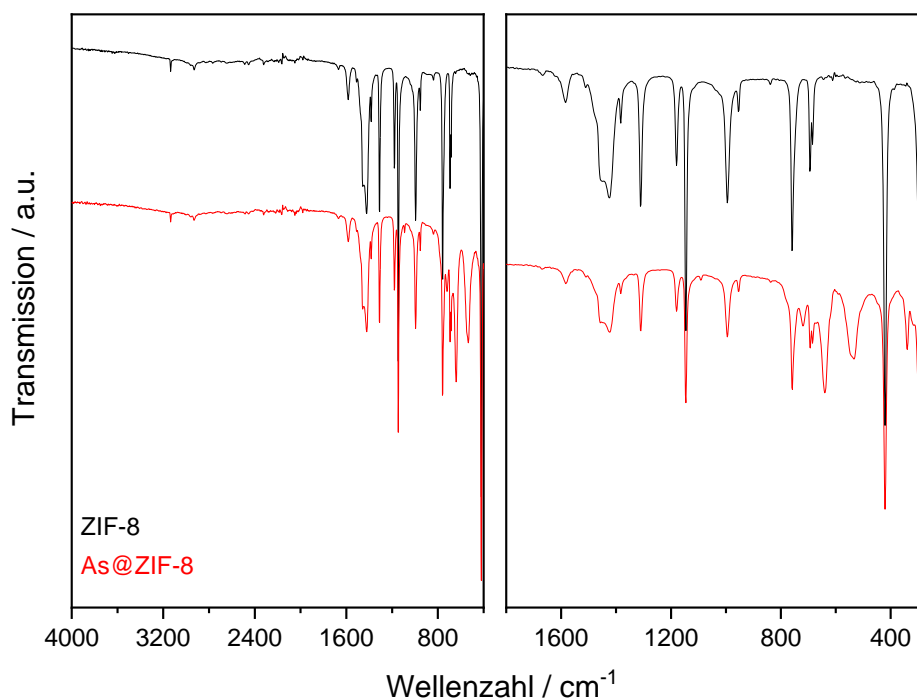


Abbildung C2: Vergleich der FT-IR-Spektren von ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 (rot) im Bereich von 4000 bis 400 cm^{-1} und von 1800 bis 300 cm^{-1} .

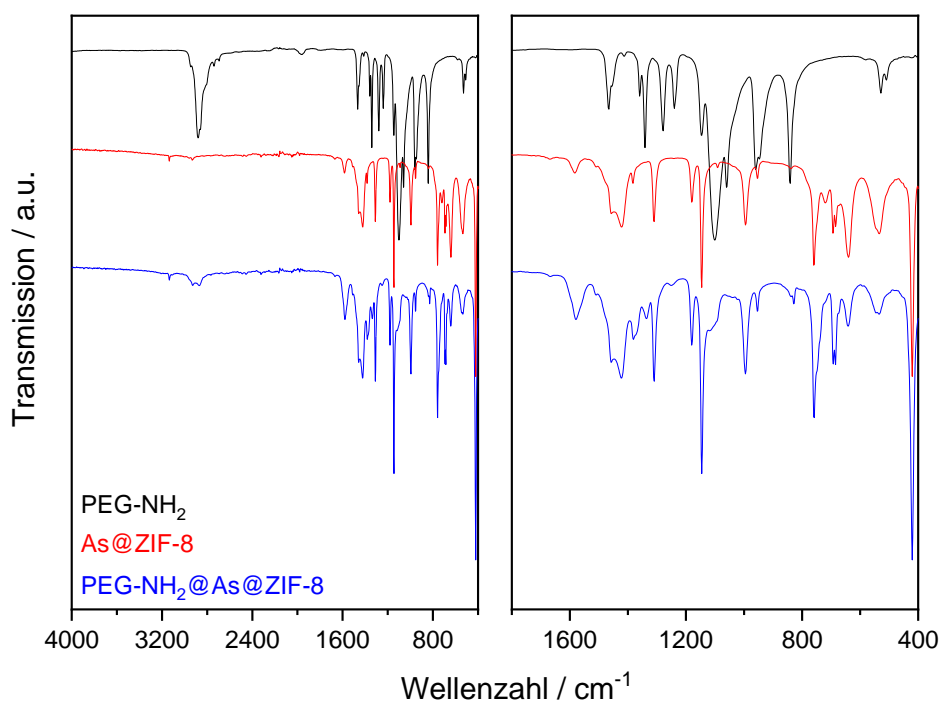


Abbildung C3: Vergleich der FT-IR-Spektren von PEG-NH₂ (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau) im Bereich von 4000 bis 400 cm^{-1} und 1800 bis 400 cm^{-1} .

C.1.3. Raman Spektroskopie

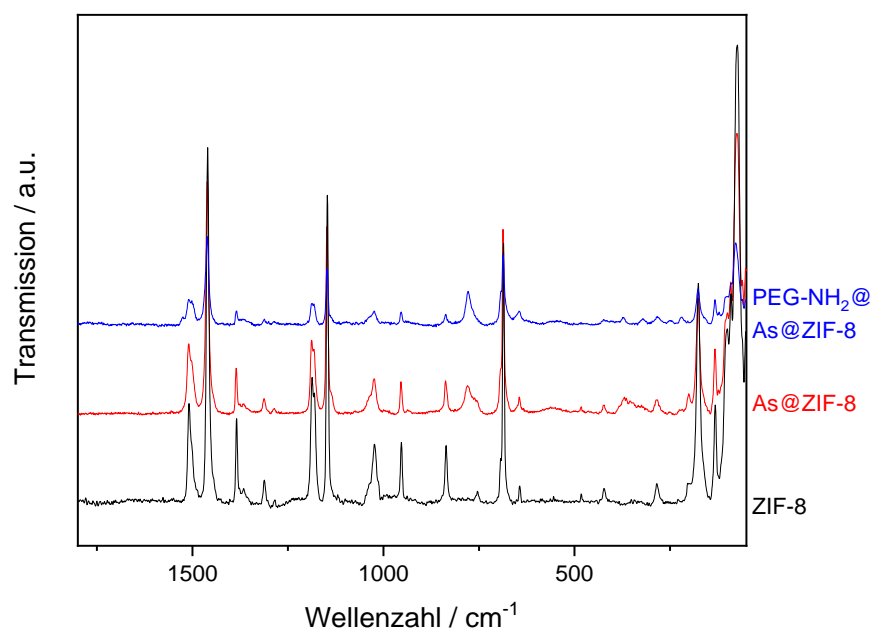


Abbildung C4: Vergleich der Raman-Spektren von ZIF-8 (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau) im Bereich von 1800 bis 50 cm⁻¹.

C.1.4. Sorptionsanalyse

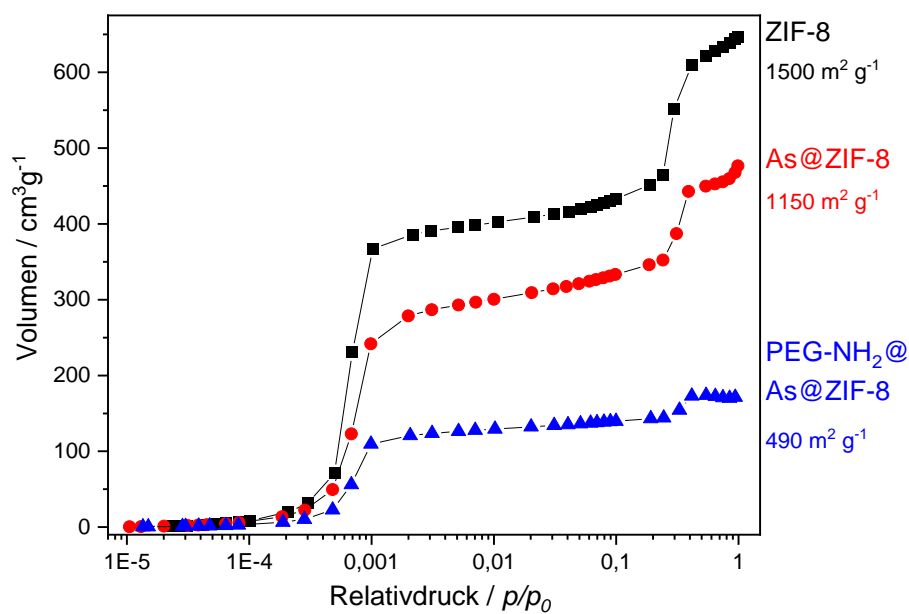


Abbildung C5: Argon-Adsorptionsisothermen von ZIF-8 (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau) bei 77 K.

C.1.5. Temperaturabhängige Pulverdiffraktion

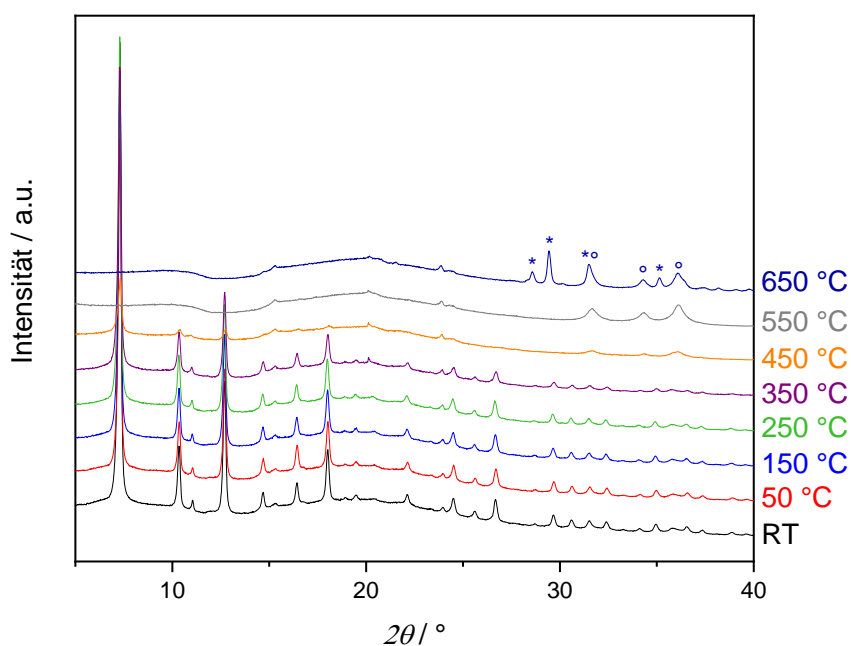


Abbildung C6: Temperaturabhängige Röntgenpulverdiffraktogramme von As@ZIF-8 im Bereich von RT-650 °C, mit einer Zersetzung zu ZnO (°, ICSD: 57450) und Zn₄(AsO₄)₂O (*, ICSD: 404034).

C.1.6. Thermogravimetrische Analyse

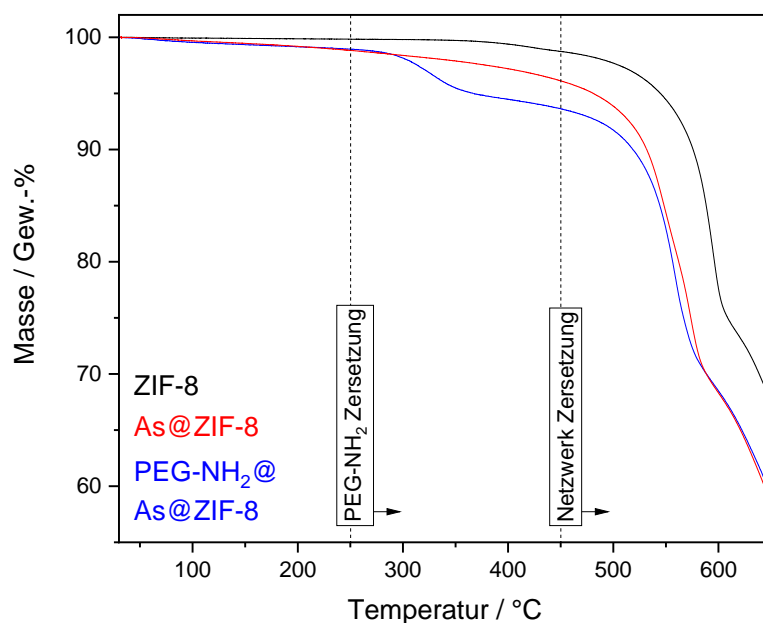


Abbildung C7: Thermogravimetrische Analyse von aktiviertem ZIF-8 (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (Probe einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

C.1.7. CHN-Elementaranalyse

Tabelle C1: Elementzusammensetzung von ZIF-8 und As@ZIF-8 bestimmt durch CHN-Elementaranalyse, die Analyse wurde in Triplikaten durchgeführt, die Daten werden als Mittelwert \pm Standardabweichung dargestellt.

	ZIF-8 (wt%)	As@ZIF-8 (wt%)
N	26,56 \pm 2,26	20,01 \pm 0,19
C	42,07 \pm 0,10	34,77 \pm 0,32
H	2,13 \pm 0,76	0,78 \pm 0,08

C.2. Quantenmechanische Rechnungen

Um die Kristallstruktur und die Schwingungseigenschaften von As@ZIF-8 zu simulieren, wurden zunächst DFT+D-Gittergeometrie-Optimierungen mit dem CASTEP-Code durchgeführt, (PBE-GGA unter Verwendung von im-Flug generierten Norm-erhaltenden Flächenwellen-Pseudopotentialen (Energie-Cutoff: 1380 eV) und einer semi-empirischen Dispersionskorrektur für nicht-bindende Wechselwirkungen nach dem von Tkatchenko und Scheffler vorgeschlagenen Schema.^[148–150]

Die endgültigen Gitterparameter und ausgewählten Eigenschaften der vollständig konvergierten Zelle, die am besten mit den experimentellen Schwingungsfrequenzen übereinstimmen, sind in **Tabelle C2** dargestellt. Ein Gittermodell der geometriekonvergierten Einheitszelle dieser Verbindung ist in **Abbildung C8** dargestellt. Die Phonon-Frequenzen wurden mit Hilfe von CASTEP DFPT-L Linear Response-Rechnungen am γ Punkt der konvergierten primitiven Zelle ermittelt.^[151] Ausgewählte berechnete Frequenzen werden in **Tabelle C2** zusammen mit einer Zuordnung der Charakteristika der lokalisierten Schwingungsmoden dargestellt.

Berechnete und gemessene IR-Spektren wurden mit Hilfe der Software SpecDis Version 1.71 verglichen und angepasst.^[135] Dabei wurde ein Skalierungsfaktor von 1,003 angewendet und die Intensität der berechneten Spektren im Bereich von 1800-200 cm^{-1} bzw. 800-200 cm^{-1} durch einen Faktor 65 bzw. 20 reduziert.

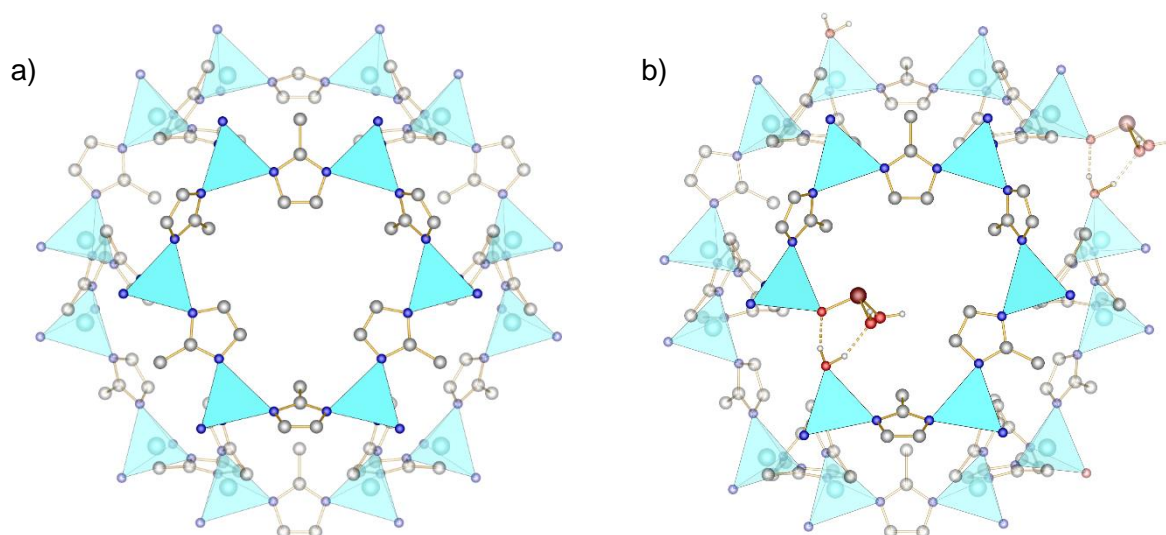


Abbildung C8: Vergleich der Kristallstrukturen von (a) ZIF-8 und (b) As@ZIF-8. (C: grau; H: weiß; O: rot; N: blau; Zn-Tetraeder: hellblau; As: dunkelrot).

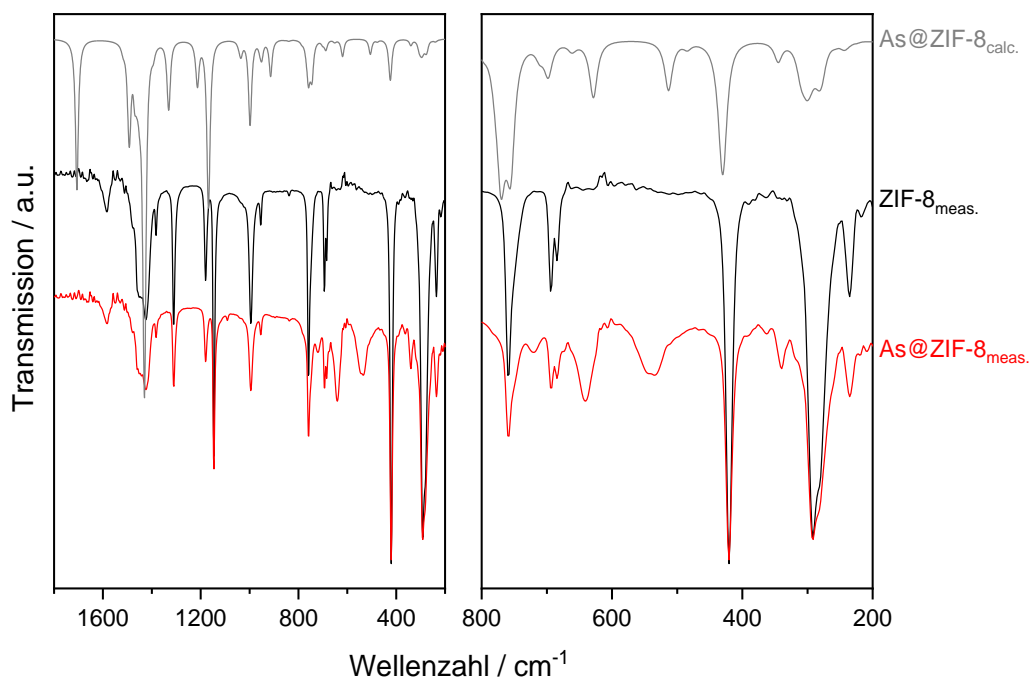


Abbildung C9: Vergleich von gemessenen FT-IR-Spektren von ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 (rot) mit modellierten IR-Spektren von As@ZIF-8 (grau) im Bereich von 1800 bis 200 cm^{-1} (links) und 800 bis 200 cm^{-1} (rechts).

Tabelle C2: Zusätzliche Schwingungsfrequenzen, die im modellierten IR-Spektrum von As@ZIF-8 im Vergleich zum modellierten IR-Spektrum von ZIF-8 beobachtet wurden (beide dargestellt in **Abbildung C9**).

Schwingungsfrequenzen / cm^{-1}	Schwingungsmoden
270 (w) , 300 (w) , 333 (m)	H-O-As Winkeldeformation
414 (m)	(HO)-As-O Winkel deformation
495 (s), 607 (s)	As-O-H ... (H-O-H) Kombinationsschwingung
729 (s)	(Zn-O-As) ... (Zn-O-H) Kombinationsschwingung
895 (s) , 931 (m)	(As-O-H) ... (Zn-O-H) Kombinationsschwingung

C.3. Wirkstoff-Freisetzung und MOF-Stabilitätsstudien

C.3.1. Wirkstoff-Freisetzung

Tabelle C3: Menge an Arsen (%), die aus As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 in eine phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wurde; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 6 (PEG-NH ₂ beschichtet)	pH 7,4	pH 7,4 (PEG-NH ₂ beschichtet)
4 h	26,9 ± 1,0	15,9 ± 1,8	15,5 ± 0,8	6,9 ± 1,0
6 h	27,2 ± 1,0	15,4 ± 1,5	15,4 ± 0,9	6,4 ± 1,0
24 h	29,4 ± 2,1	20,2 ± 1,1	15,8 ± 1,5	7,2 ± 1,0
48 h	52,5 ± 3,6	30,0 ± 2,4	16,5 ± 1,9	8,3 ± 1,0
72 h	77,2 ± 1,9	46,6 ± 3,7	17,5 ± 3,6	9,2 ± 1,1
168 h	98,6 ± 2,7	98,5 ± 2,1	19,2 ± 2,1	13,7 ± 1,5

C.3.2. MOF-Stabilität in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 7,4

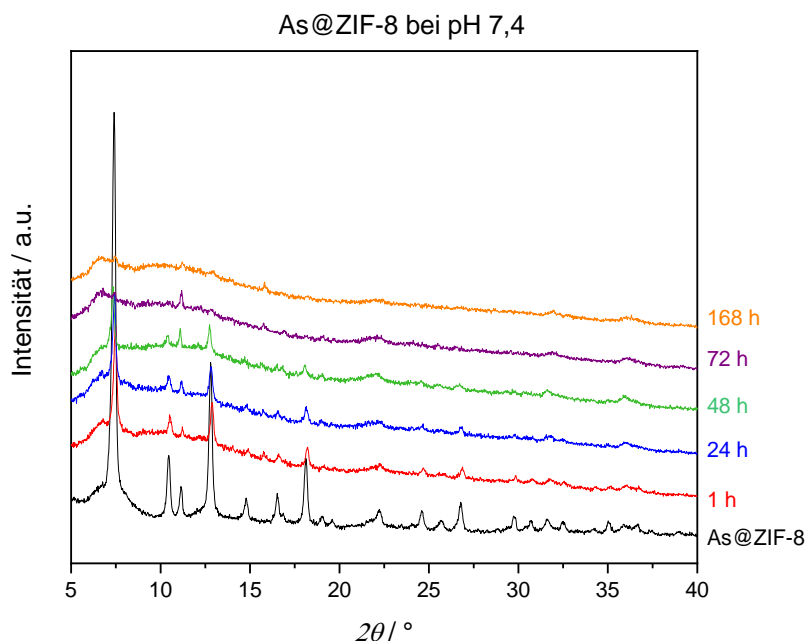


Abbildung C10: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von As@ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien.

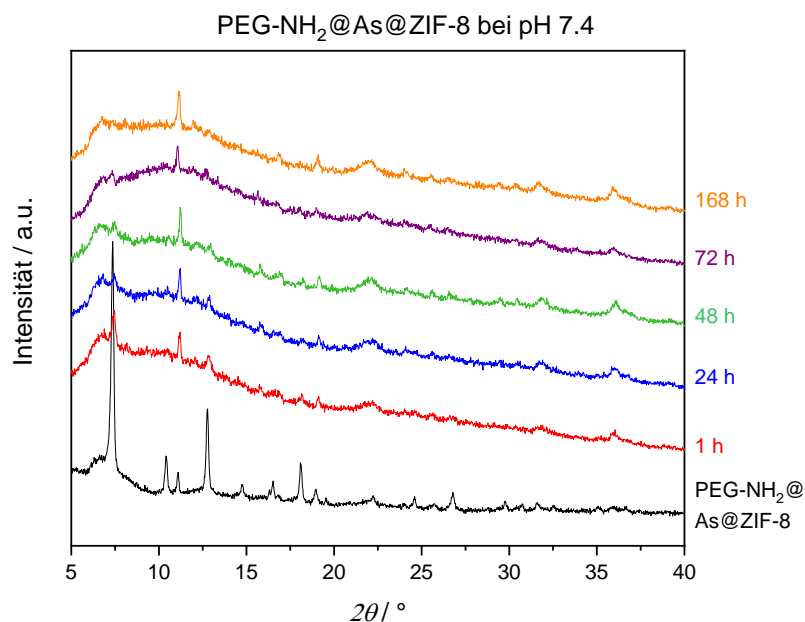


Abbildung C11: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG-NH₂@As@ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien.

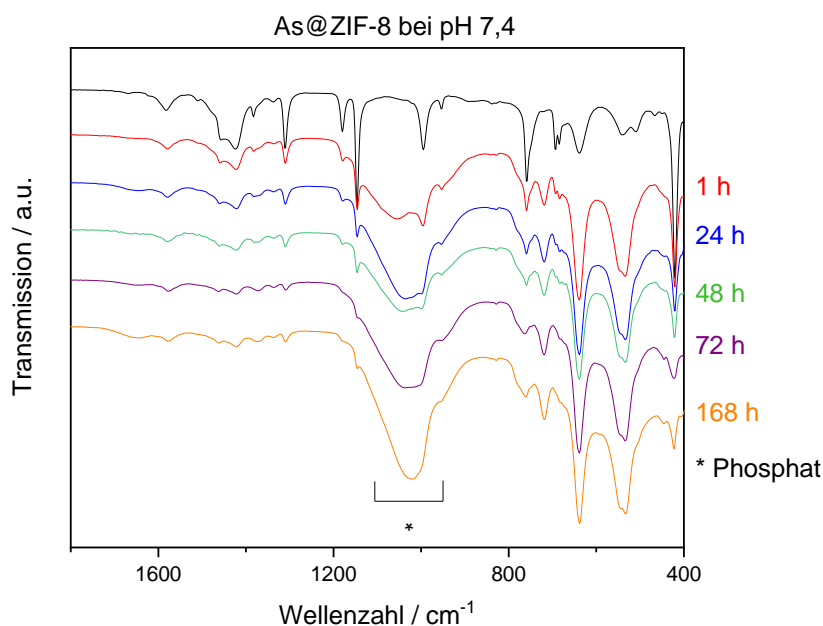


Abbildung C12: FT-IR-Spektren von As@ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 1800 bis 400 cm^{-1} .

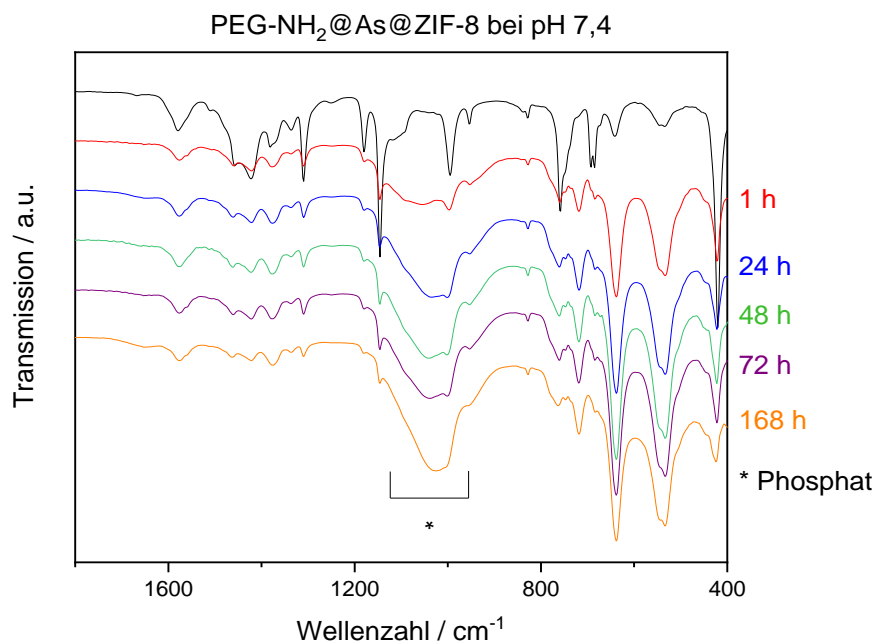


Abbildung C13: FT-IR-Spektren von PEG-NH₂@As@ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 nach den bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 1800 bis 400 cm^{-1} .

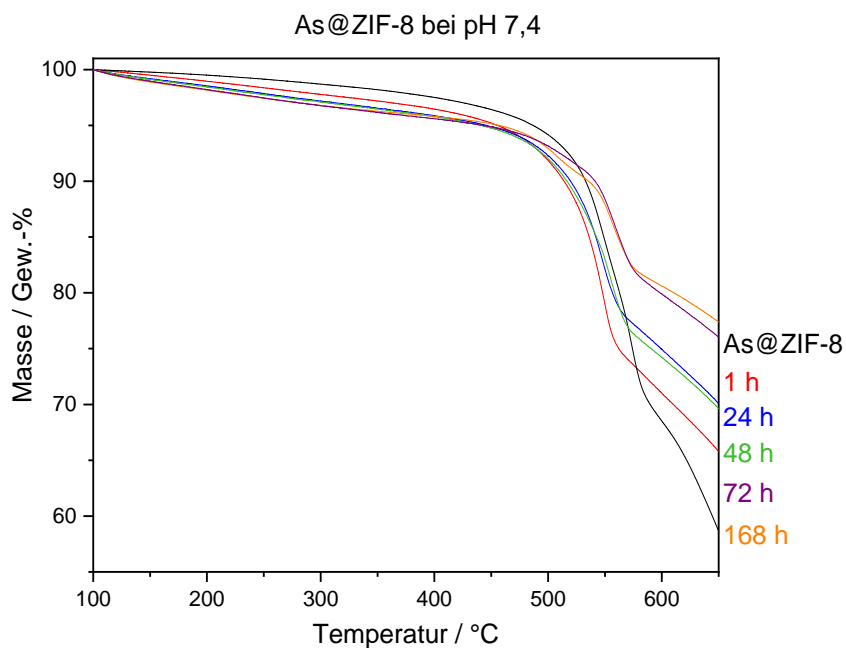


Abbildung C14: Thermogravimetrische Analyse von As@ZIF-8 vor (schwarz) und nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 24 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführt wurden (die Proben wurden 3 h bei 100 °C aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

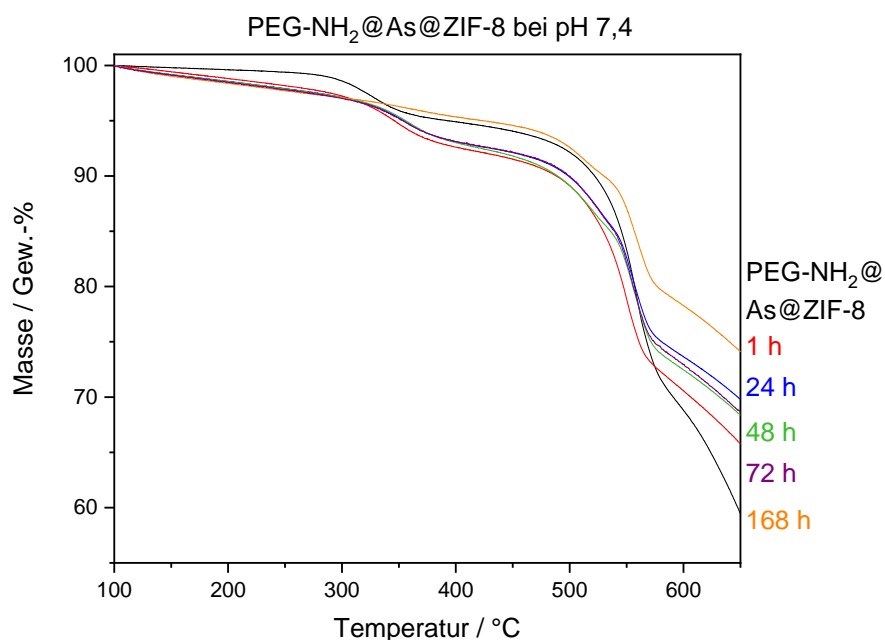


Abbildung C15: Thermogravimetrische Analyse von PEG-NH₂@As@ZIF-8 vor (schwarz) und nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 24 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführt wurden (die Proben wurden 3 h bei 100 °C aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

C.3.3. MOF-Stabilität in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 6

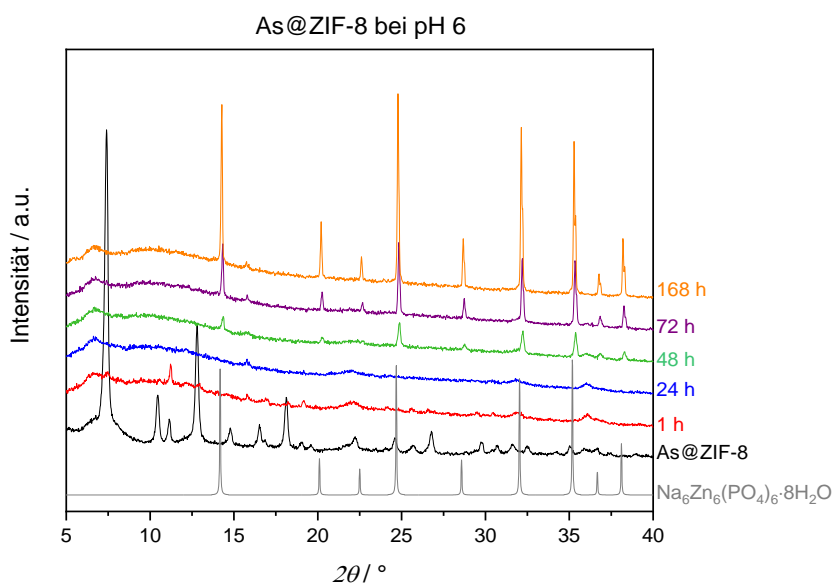


Abbildung C16: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von As@ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und dem berechneten Röntgenpulverdiffraktogramm von Na₆Zn₆(PO₄)₆·8H₂O (grau, CSD: 56499).

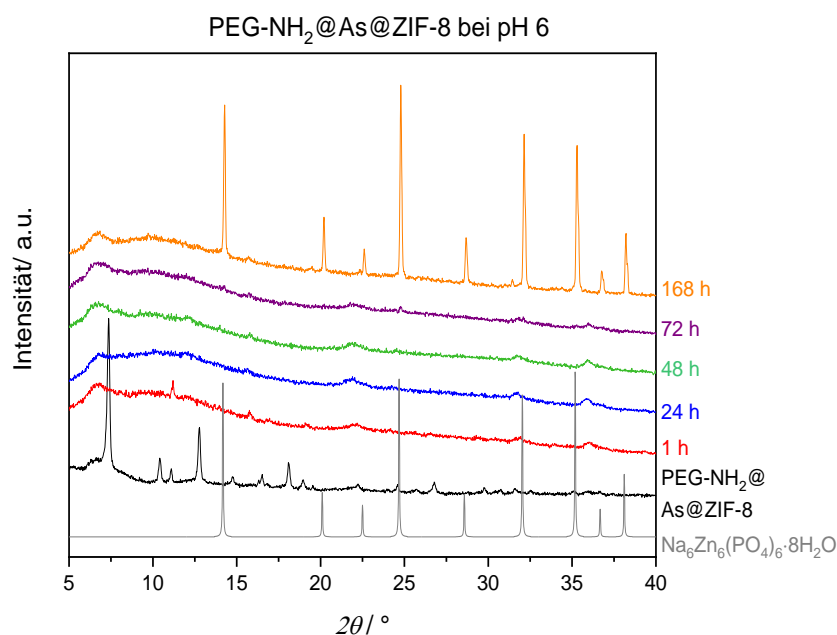


Abbildung C17: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG-NH₂@As@ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien und dem berechneten Röntgenpulverdiffraktogramm von Na₆Zn₆(PO₄)₆·8H₂O (grau, CSD: 56499).

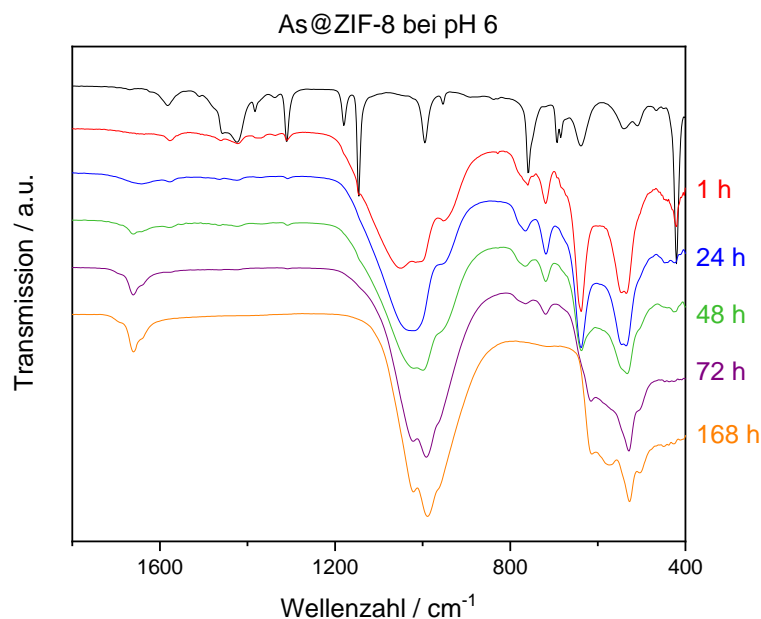


Abbildung C18: FT-IR-Spektren von As@ZIF-8 (schwarz) und As@ZIF-8 nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 1800 bis 400 cm^{-1} .

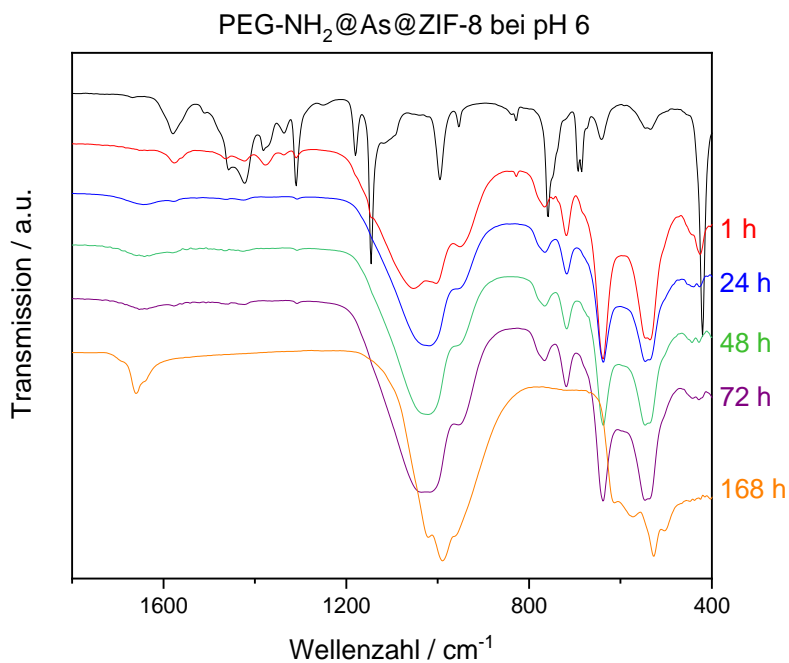


Abbildung C19: FT-IR-Spektren von PEG-NH₂@As@ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 nach den bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 48 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 1800 bis 400 cm^{-1} .

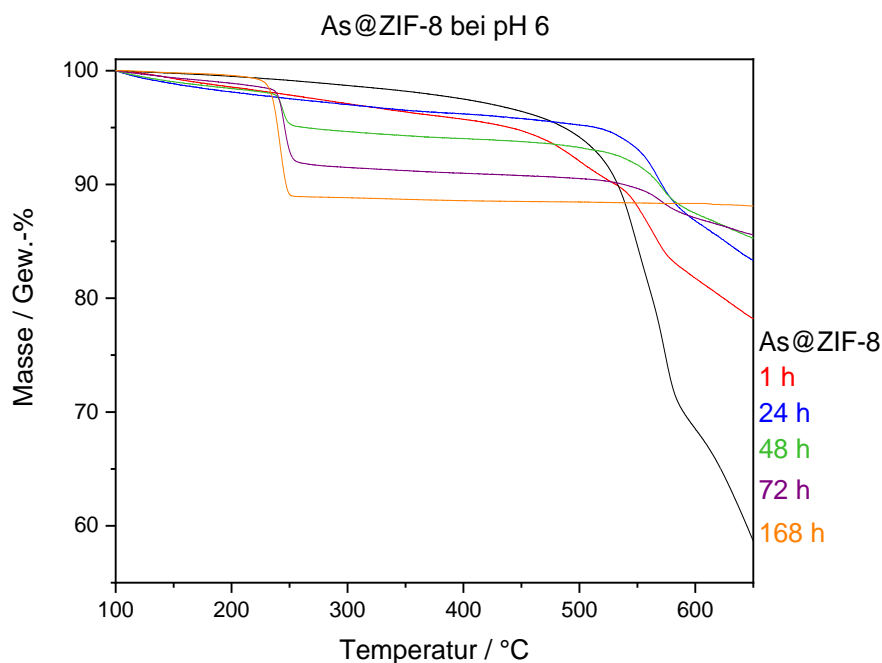


Abbildung C20: Thermogravimetrische Analyse von As@ZIF-8 vor (schwarz) und nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 6 für 1 h (rot), 24 h (blau), 24 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführt wurden (die Proben wurden 3 h bei 100 °C aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

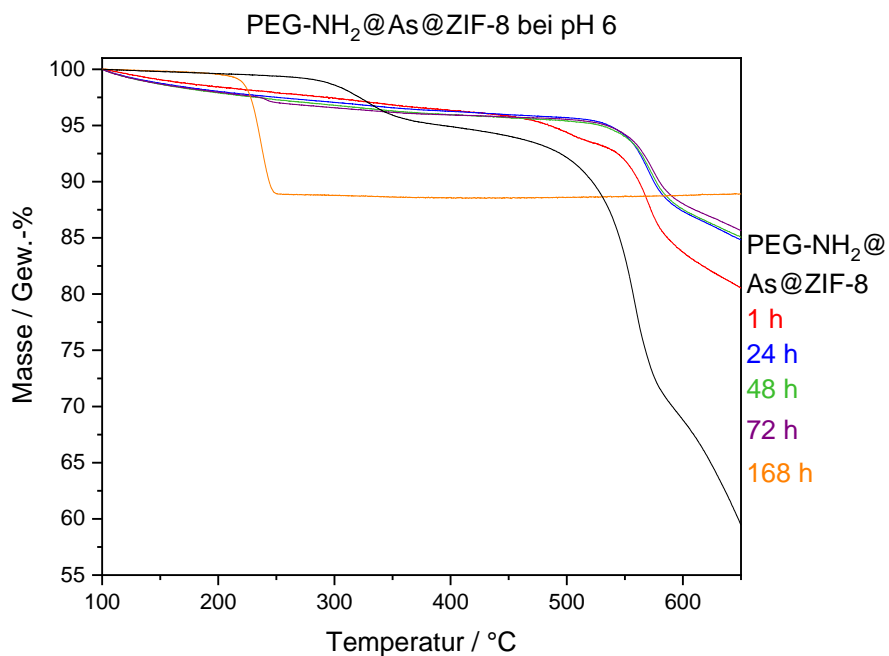


Abbildung C21: Thermogravimetrische Analyse von PEG-NH₂@As@ZIF-8 vor (schwarz) und nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 1 h (rot), 24 h (blau), 24 h (grün), 72 h (violett) und 168 h (orange) durchgeführt wurden (die Proben wurden 3 h bei 100 °C aktiviert und einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

C.4. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Die Zusammensetzung der Nanopartikel von As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8 wurde mittels ICP-OES bestimmt (**Tabelle 5.3**). Die Masse der verschiedenen Proben für die Zytotoxizitätsstudien wurde in Bezug auf eine festgelegte Konzentration von Arsen (As@ZIF-8 und PEG-NH₂@As@ZIF-8) berechnet. Entsprechend diesem Ergebnis wurde die äquivalente Menge von ZIF-8 und dem organischen Liganden berechnet. Für jede Probe wurde eine Stammlösung hergestellt, die für die Vorbereitung der Proben in den erforderlichen Konzentrationen verwendet wurde.

- Menge von PEG-NH₂@As@ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die 100 µmol As₂O₃ entspricht: 202,5 mg
- Menge von As@ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die 100 µmol As₂O₃ entspricht: 192,1 mg
- Menge von ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die 100 µmol von As₂O₃ entspricht: 173,8 mg
- Menge an 2-Methylimidazol in ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die 100 µmol As₂O₃ entspricht: 129,4 mg

Tabelle C4: Überblick über die berechnete Menge jedes Materials zur Vorbereitung der Probe mit der gegebenen Konzentration von As₂O₃ (0,0001 100 µM).

Probe	Konz. von As ₂ O ₃ (µM)	PEG-NH ₂ @As@ZIF-8 (mg/100 mL) ^a	As@ZIF-8 (mg/100 mL) ^b	ZIF-8 (mg/100 mL) ^c	2-Methylimidazol (mg/100 mL) ^d
1	0,0001	0,00002025	0,00001921	0,00001738	0,00001294
2	0,001	0,0002025	0,0001921	0,0001738	0,0001294
3	0,01	0,002025	0,001921	0,001738	0,001294
4	0,1	0,02025	0,01921	0,01738	0,01294
5	1	0,2025	0,1921	0,1738	0,1294
6	10	2,025	1,921	1,738	1,294
7	100	20,25	19,21	17,38	12,94

^a Menge von PEG-NH₂@As@ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die der gegebenen Konzentration von As₂O₃ entspricht (0,0001 → 100 µM).

^b Menge von As@ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die der gegebenen Konzentration von As_2O_3 entspricht (0,0001 \rightarrow 100 μM).

^c Menge von ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die der gegebenen Konzentration von As_2O_3 entspricht (0,0001 \rightarrow 100 μM).

^d Menge an 2-Methylimidazol in ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die der gegebenen Konzentration As_2O_3 entspricht (0,0001 \rightarrow 100 μM).

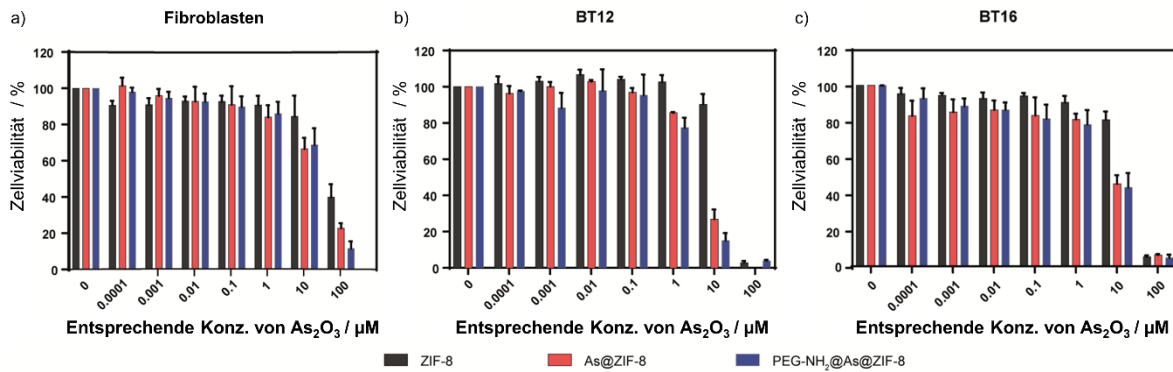


Abbildung C22: Zellviabilität von (a) Fibroblasten, (b) BT12- und (c) BT16-Zellen nach 24 h Inkubation mit steigenden Konzentrationen von ZIF-8 (schwarz), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau). Die Daten werden als Mittelwert \pm S.E.M. dargestellt ($n \geq 3$).

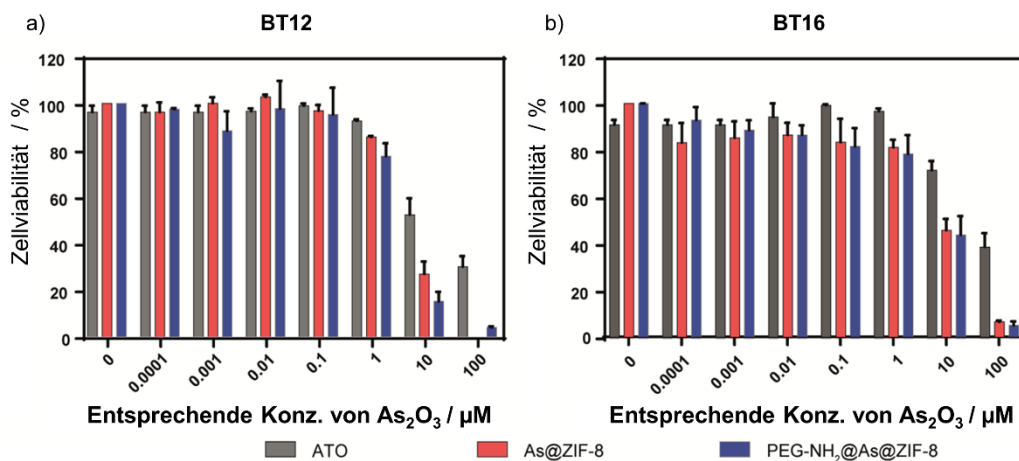


Abbildung C23: Zellviabilität von (a) BT12- und (b) BT16-Zellen nach 24 h Inkubation mit steigenden Konzentrationen von ATO (grau), As@ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@As@ZIF-8 (blau). Die Daten werden als Mittelwert \pm S.E.M. dargestellt ($n \geq 3$).

D. Anhang Kapitel 5.4

D.1. Thermogravimetrische Analyse

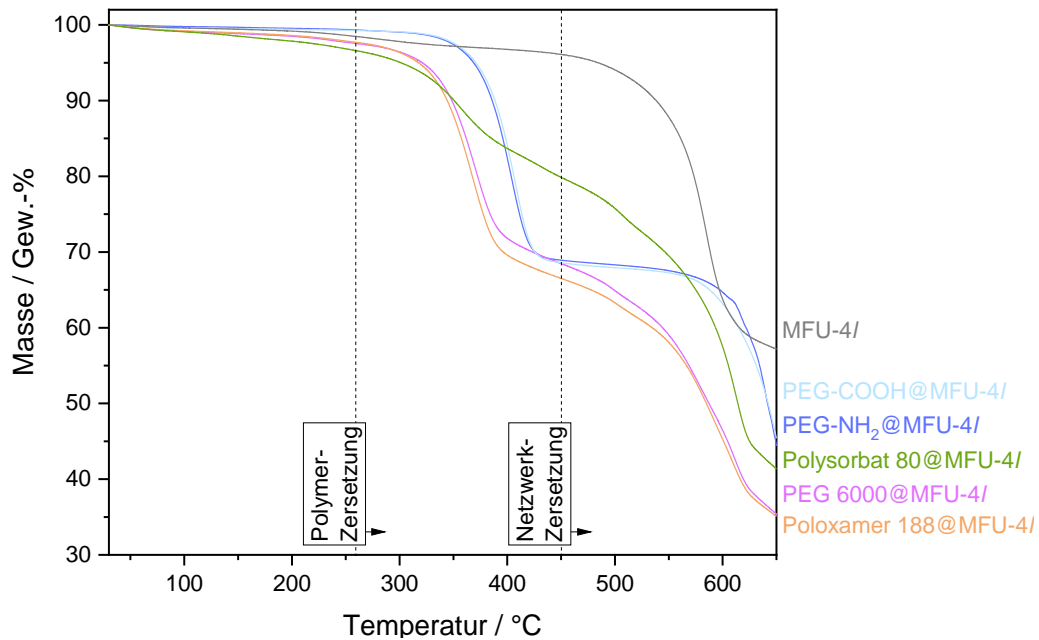


Abbildung D1: Thermogravimetrische Analyse von MFU-4l Nanopartikeln (grau) und Polymer@MFU-4l: PEG-COOH (hellblau), PEG-NH₂ (dunkelblau), Polysorbat 80 (grün), PEG 6000 (lila) und Poloxamer 188 (orange) (Proben einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

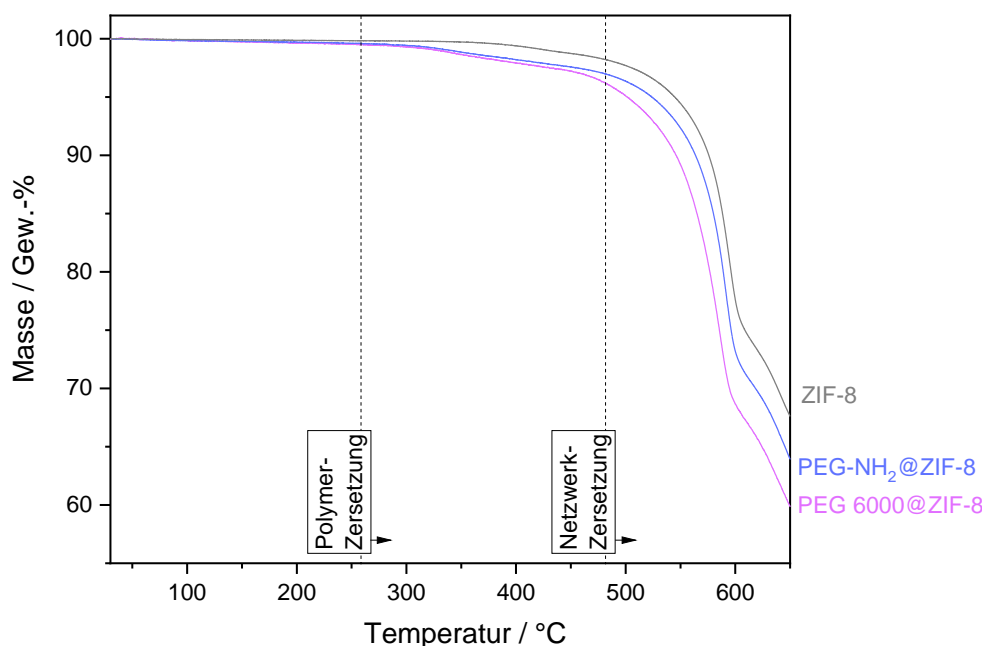


Abbildung D2: Thermogravimetrische Analyse von ZIF-8 Nanopartikeln (grau) und Polymer@ZIF-8: PEG-NH₂ (dunkelblau) und PEG 6000 (lila) (Proben einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

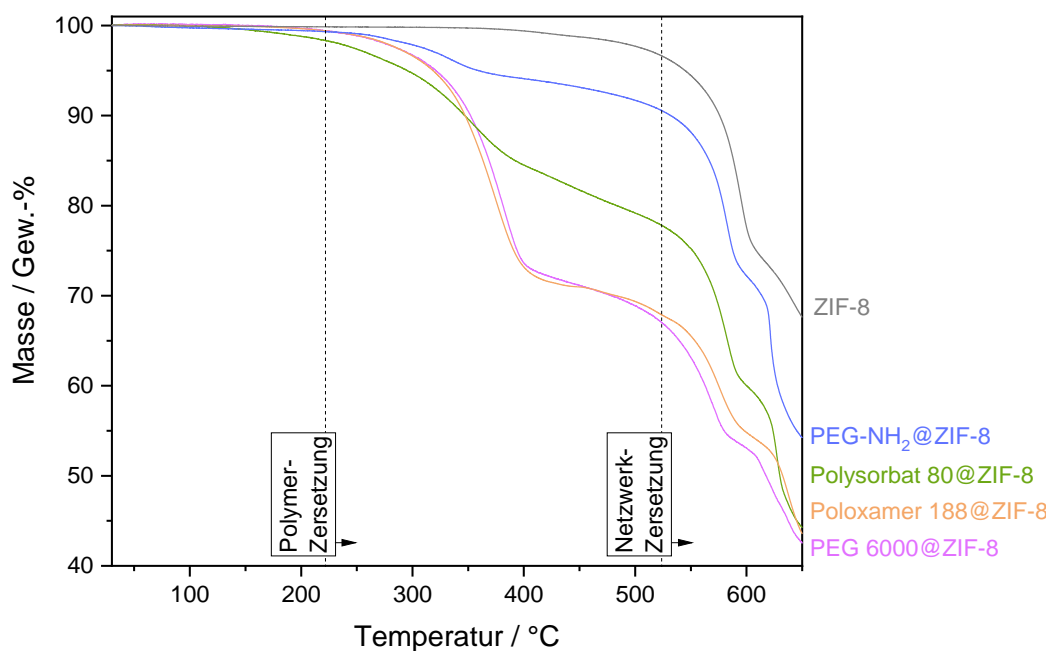


Abbildung D3: Thermogravimetrische Analyse von ZIF-8 Nanopartikeln (grau) und Polymer@ZIF-8: PEG-NH₂ (dunkelblau), Polysorbat 80 (grün), Poloxamer 188 (orange) und PEG 6000 (lila) (Proben einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

D.2. FT-IR-Spektroskopie

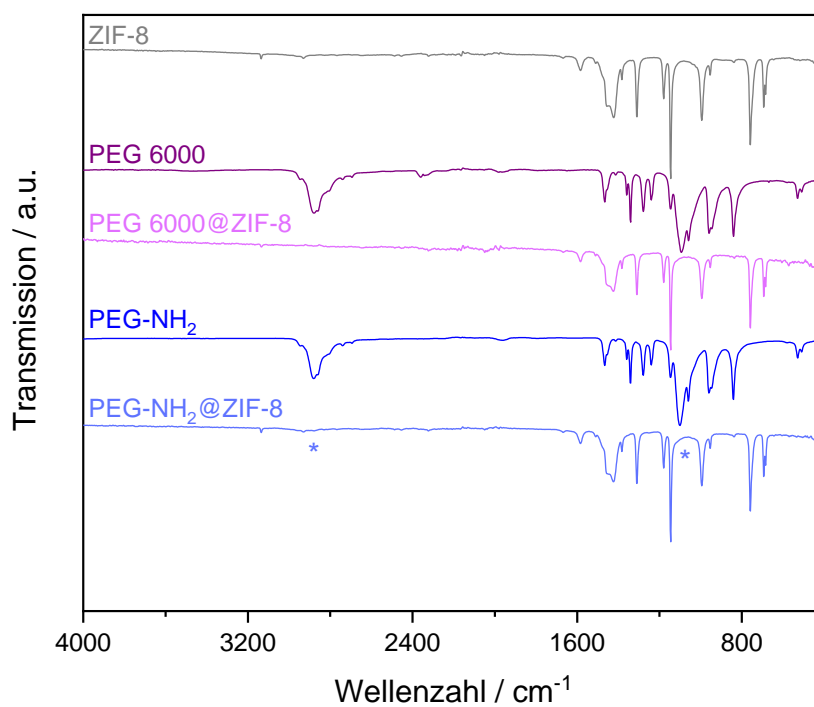


Abbildung D4: Vergleich der FT-IR-Spektren von ZIF-8 (grau) mit den verschiedenen Polymeren und Polymer@ZIF-8: PEG 6000 (lila) und PEG-NH₂ (dunkelblau) im Bereich von 4000 bis 400 cm^{-1} .

E. Anhang – Kapitel 5.7

E.1. Charakterisierung von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8

E.1.1. Transmissionselektronenmikroskop

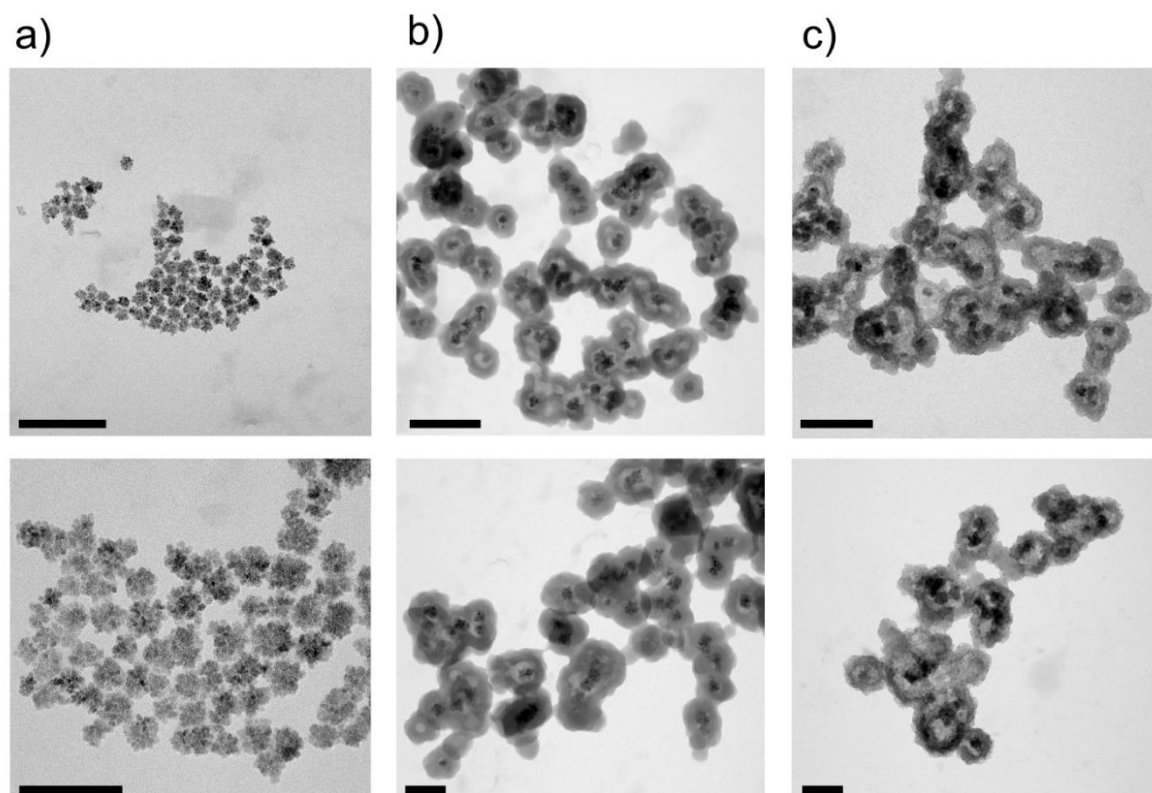


Abbildung E1: TEM-Aufnahmen von (a) Fe₃O₄-Nanoclustern, (b) PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und (c) PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8; Maßstabsbalken: 200 nm (obere Linie), 100 nm (untere Linie).

E.1.2. Elementverteilungsbilder

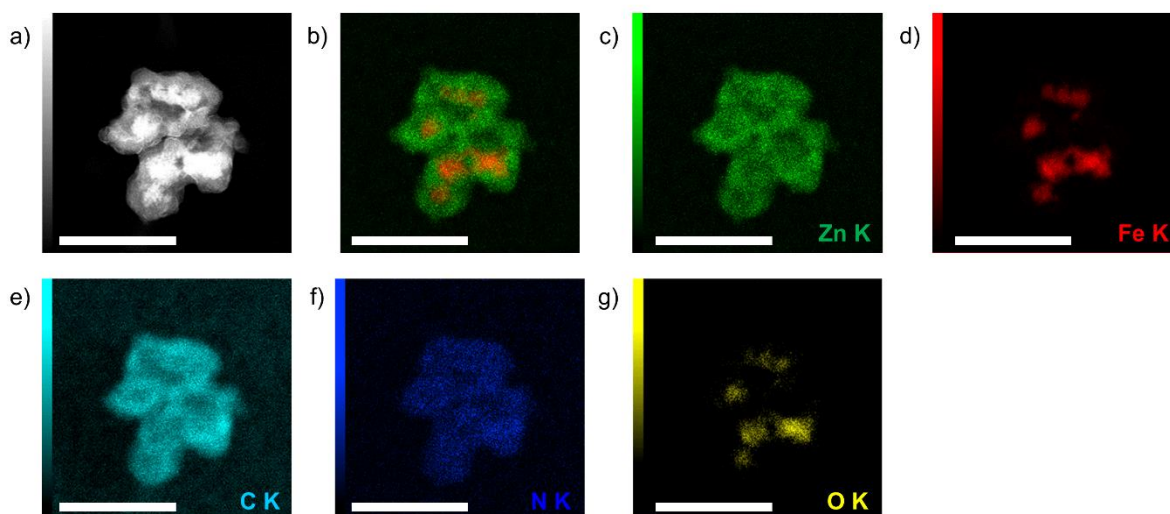


Abbildung E2: Elementverteilungsbilder von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8: (a) Dunkelfeld-STEM-Aufnahme, (b) eine Überlagerung der Elementverteilungsbilder von Zn (grün) und Fe (rot) und die Elementverteilungsbilder von (c) Zn (grün), (d) Fe (rot), (e) C (hellblau), (f) N (dunkelblau) und (g) O (gelb), Maßstabsbalken: 200 nm.

E.1.3. FT-IR-Spektroskopie

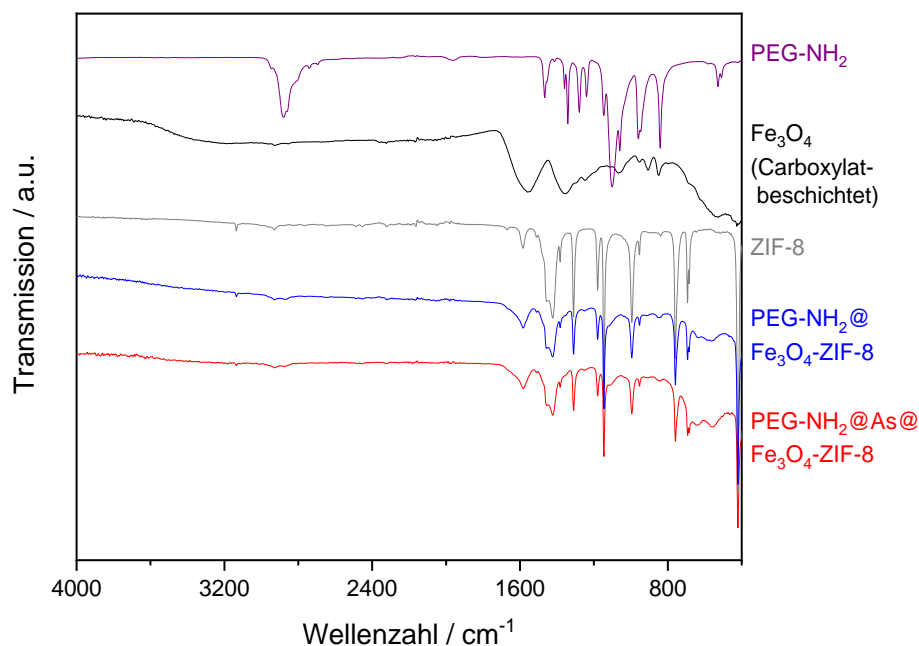


Abbildung E3: Vergleich der FT-IR-Spektren von PEG-NH₂ (violett), Fe₃O₄ (schwarz), ZIF-8 (grau), PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (blau) und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot) im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹.

E.1.4. Thermogravimetrische Analyse

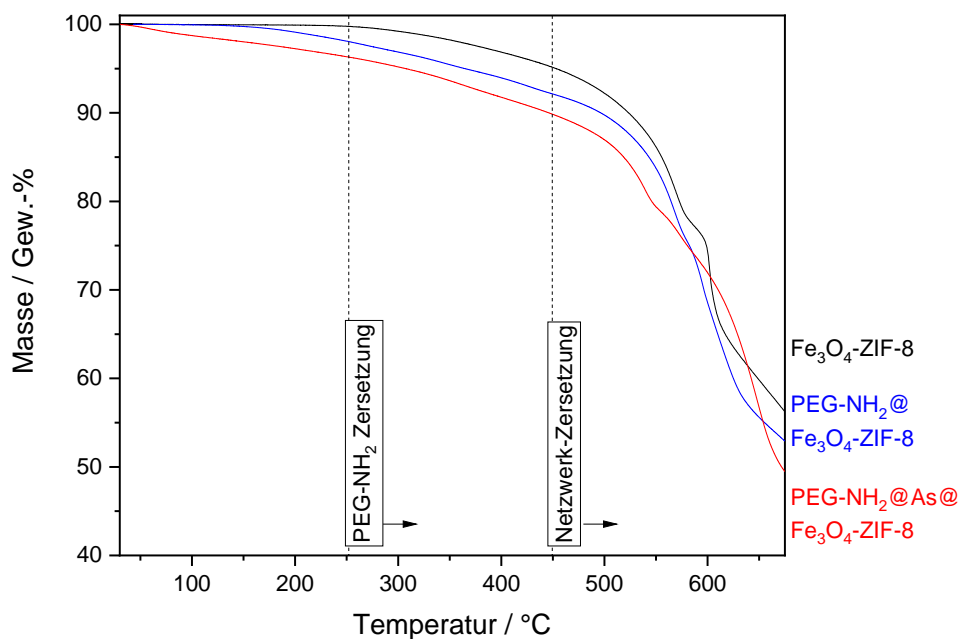


Abbildung E4: Thermogravimetrische Analyse von ausgeheiztem Fe₃O₄-ZIF-8 (schwarz), ausgeheiztem PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (blau) und frisch synthetisiertem PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot) (Probe einem Stickstoffgasstrom ausgesetzt).

E.1.5. CHN-Elementaranalyse

Tabelle E1: Elementzusammensetzung von arsenfreiem Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 und arsenhaltigem As@Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 bestimmt durch CHN-Elementaranalyse, die Analyse wurde in Triplikaten durchgeführt, die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung dargestellt.

	Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (Gew.-%)	PEG-NH ₂ @ Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (Gew.-%)	As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (Gew.-%)	PEG-NH ₂ @As@ Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (Gew.-%)
N	19,61 ± 0,03	18,94 ± 0,01	14,35 ± 0,02	13,95 ± 0,03
C	36,04 ± 0,07	34,70 ± 0,03	27,04 ± 0,02	27,49 ± 0,14
H	3,61 ± 0,03	3,61 ± 0,04	2,95 ± 0,02	3,12 ± 0,01

E.2. Wirkstoff-Freisetzung und Stabilitätsstudien

E.2.1. Arsen-Freisetzung

Tabelle E2: Menge an Arsen (%), die aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 in eine phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wurde; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 7,4
1 h	27,0 ± 1,0	16,6 ± 0,7
4 h	44,4 ± 2,9	29,6 ± 2,8
6 h	54,3 ± 3,1	32,6 ± 1,6
24 h	80,2 ± 2,5	43,5 ± 1,4
48 h	85,0 ± 1,7	45,7 ± 2,0
72 h	92,6 ± 3,1	48,9 ± 1,6
168 h	96,9 ± 3,1	52,6 ± 1,4

E.2.2. Zink-Freisetzung

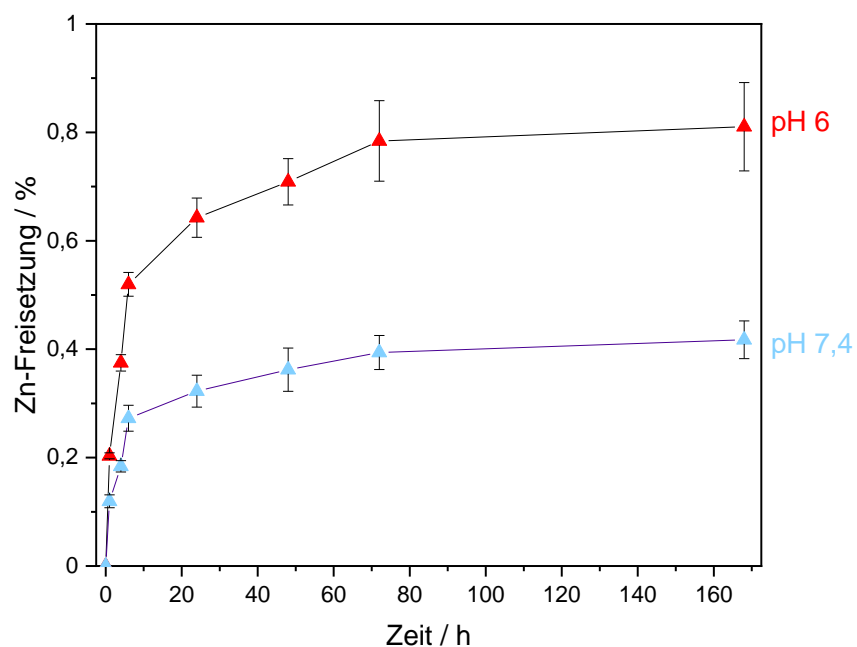


Abbildung E5: Zink-Freisetzung aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 bei pH 6 (blau) und 7,4 (rot) bei 37 °C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung; bestimmt durch ICP-OES.

Tabelle E3: Menge an Zink (%), die aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 in eine phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wurde; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 7,4
1 h	0,20 ± 0,01	0,12 ± 0,01
4 h	0,37 ± 0,02	0,18 ± 0,01
6 h	0,52 ± 0,02	0,27 ± 0,02
24 h	0,64 ± 0,04	0,32 ± 0,03
48 h	0,71 ± 0,04	0,36 ± 0,04
72 h	0,78 ± 0,07	0,39 ± 0,03
168 h	0,81 ± 0,08	0,42 ± 0,04

E.2.3. Eisen-Freisetzung

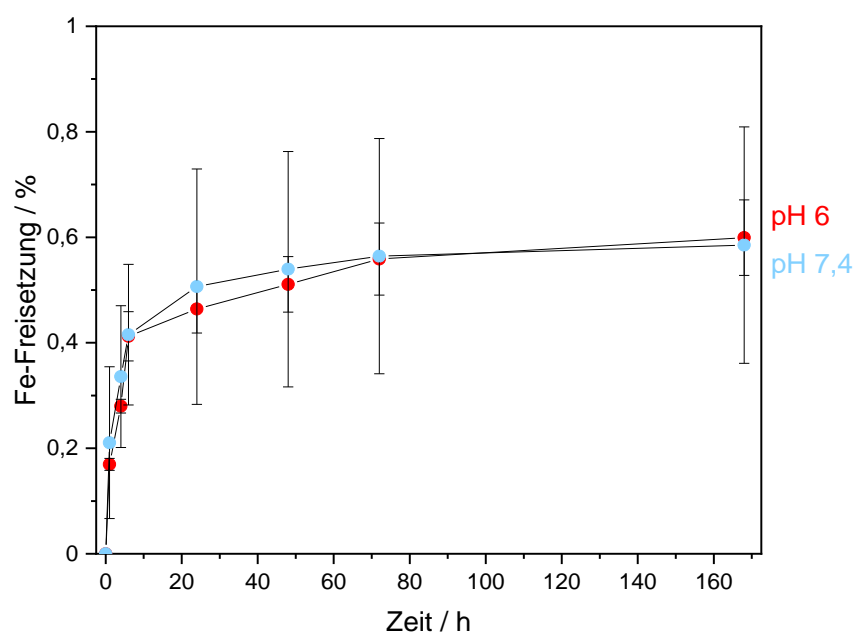


Abbildung E6: Eisen-Freisetzung aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 bei pH 6 (blau) und 7,4 (rot) bei 37 °C in phosphatgepufferter Kochsalzlösung; bestimmt durch ICP-OES.

Tabelle E4: Menge an Eisen (%), die aus PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 in eine phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei 37 °C bei pH 6 und pH 7,4 freigesetzt wurde; bestimmt durch ICP-OES.

Zeit	pH 6	pH 7,4
1 h	0,17 ± 0,01	0,21 ± 0,14
4 h	0,28 ± 0,01	0,33 ± 0,13
6 h	0,41 ± 0,05	0,41 ± 0,13
24 h	0,46 ± 0,05	0,51 ± 0,22
48 h	0,51 ± 0,05	0,51 ± 0,22
72 h	0,55 ± 0,07	0,54 ± 0,22
168 h	0,60 ± 0,07	0,59 ± 0,22

E.2.4. Stabilität in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 7,4

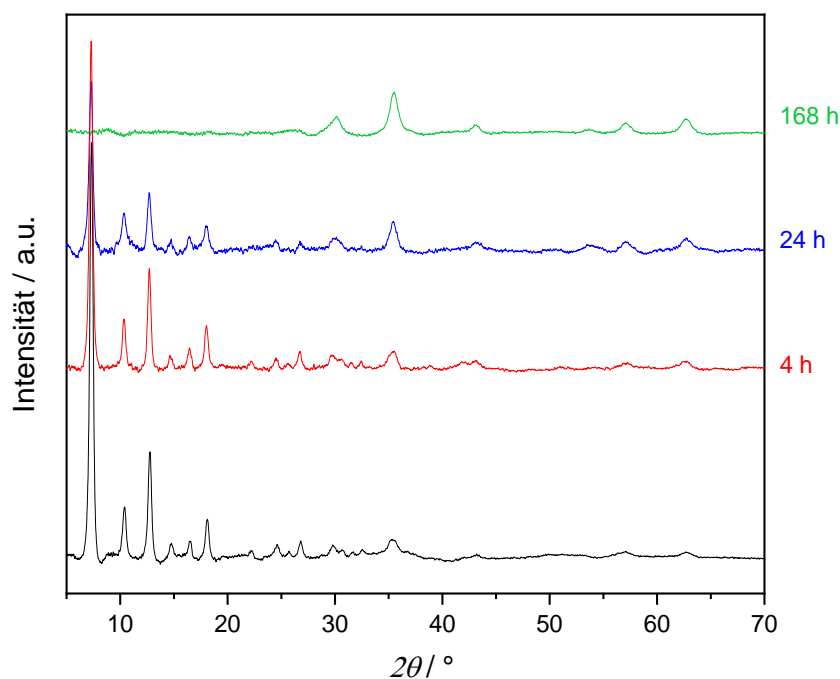


Abbildung E7: Vergleich der gemessenen Röntgenpulverdiffraktogramme von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 nach den Studien zur Arsen-Freisetzung, die bei pH 7,4 für 4 h (rot), 24 h (blau) und 168 h (grün) durchgeführt wurden.

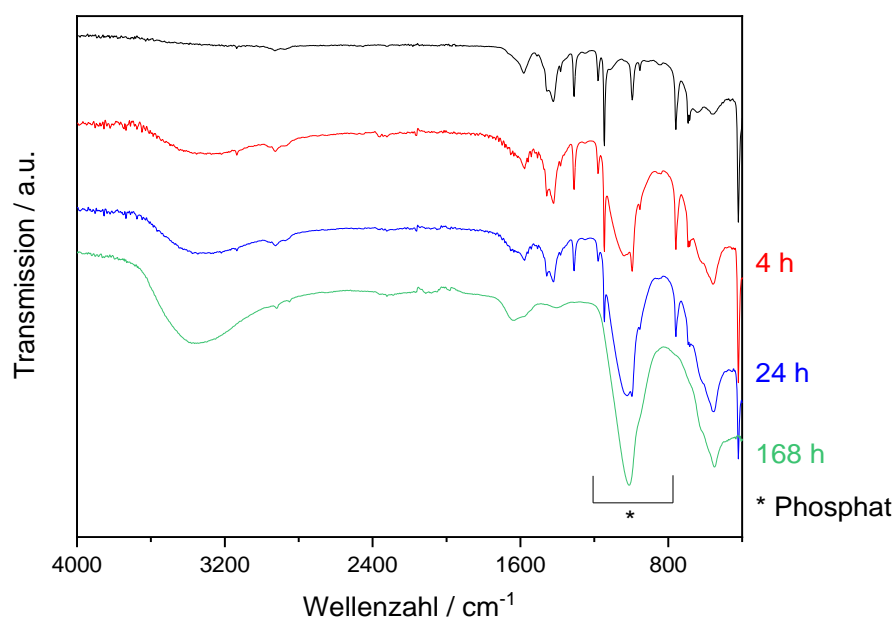


Abbildung E8: FT-IR-Spektren von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 nach den bei pH 7,4 für 4 h (rot), 24 h (blau) und 168 h (grün) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹.

E.2.5. Stabilität in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 6

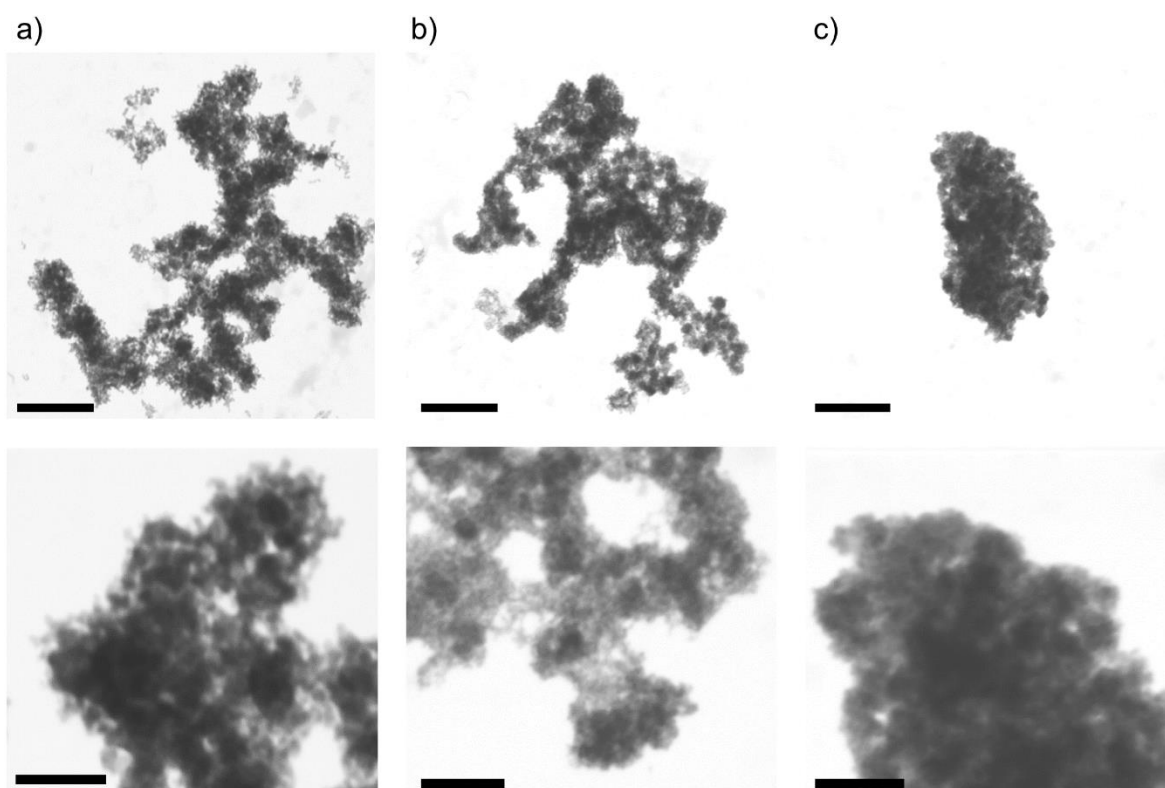


Abbildung E9: STEM-Aufnahmen von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 nach 4 h (a), 24 h (b) und 168 h (c) in phosphatgepufferter Kochsalzlösung bei pH 6; Maßstabsbalken: 300 nm (oben), 100 nm (unten).

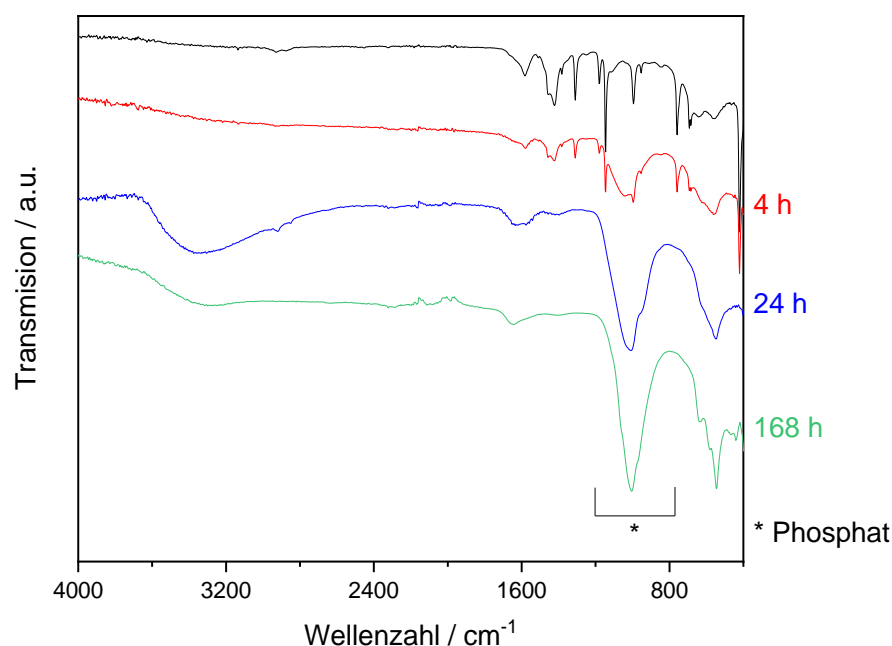


Abbildung E10: FT-IR-Spektren von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (schwarz) und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 nach den bei pH 6 für 4 h (rot), 24 h (blau) und 168 h (grün) durchgeführten Arsen-Freisetzungsstudien im Bereich von 4000 bis 400 cm⁻¹.

E.3. *In vitro* Zytotoxizitätsstudien

Die Zusammensetzung der Nanopartikel von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 wurde durch ICP-OES bestimmt (**Tabelle E5**). Die Masse der verschiedenen Proben für die Zytotoxizitätsstudien wurde in Bezug auf eine festgelegte Konzentration von Arsen (PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8) berechnet. Entsprechend diesem Ergebnis wurde die äquivalente Menge von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 berechnet. Für jede Probe wurde eine Stammlösung hergestellt, die für die Vorbereitung der Proben in den erforderlichen Konzentrationen verwendet wurde.

- Menge von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die 100 µmol As₂O₃ entspricht: 284,20 mg
- Menge von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die 100 µmol von As₂O₃ entspricht: 328,05 mg

Tabelle E5: Überblick über die berechnete Menge jedes Materials zur Vorbereitung der Probe mit der gegebenen Konzentration von As_2O_3 (0,0001 100 μM).

Probe	Konz. von As_2O_3 (μM)	PEG-NH ₂ @As@Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (mg/100 mL) ^a	PEG-NH ₂ @Fe ₃ O ₄ -ZIF-8 (mg/100 mL) ^b
1	0,0001	0,000028420	0,000032805
2	0,001	0,00028420	0,00032805
3	0,01	0,0028420	0,0032805
4	0,1	0,028420	0,032805
5	1	0,28420	0,32805
6	10	2,8420	3,2805
7	100	28,420	32,805

^a Menge von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8, die diejenige As-Menge enthält, die der gegebenen Konzentration von As_2O_3 entspricht (0,0001 → 100 μM).

^b Menge von PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8, die mit derjenigen As-Menge beladen werden kann, die der gegebenen Konzentration von As_2O_3 entspricht (0,0001 → 100 μM).

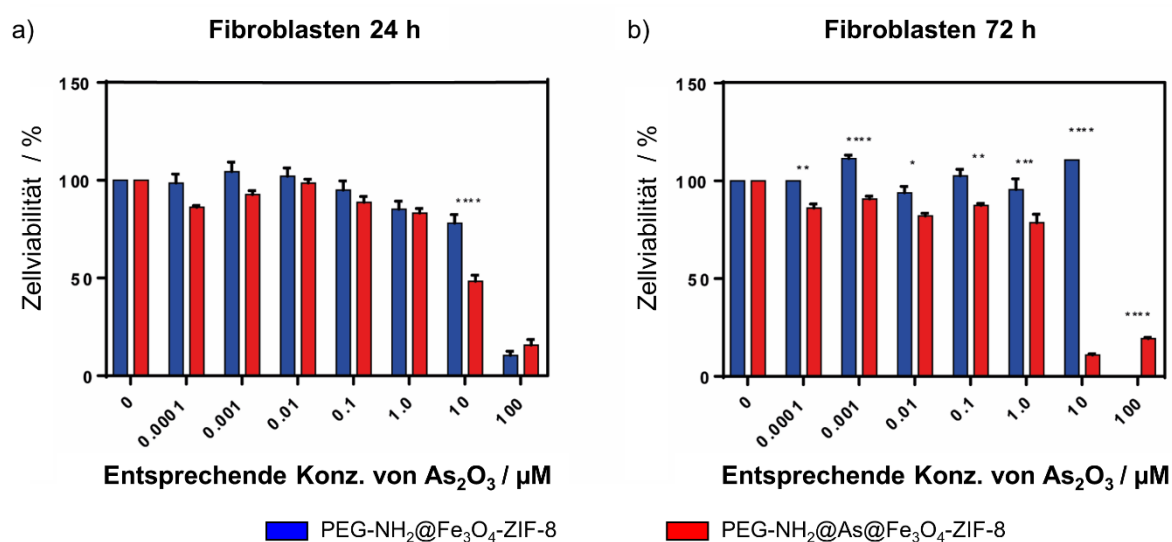


Abbildung E11: Zellviabilität von Fibroblasten nach (a) 24 h und (b) 72 h Inkubation mit steigenden Konzentrationen von PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (blau). Die Daten werden als Mittelwert ± S.E.M. dargestellt (n ≥ 3).

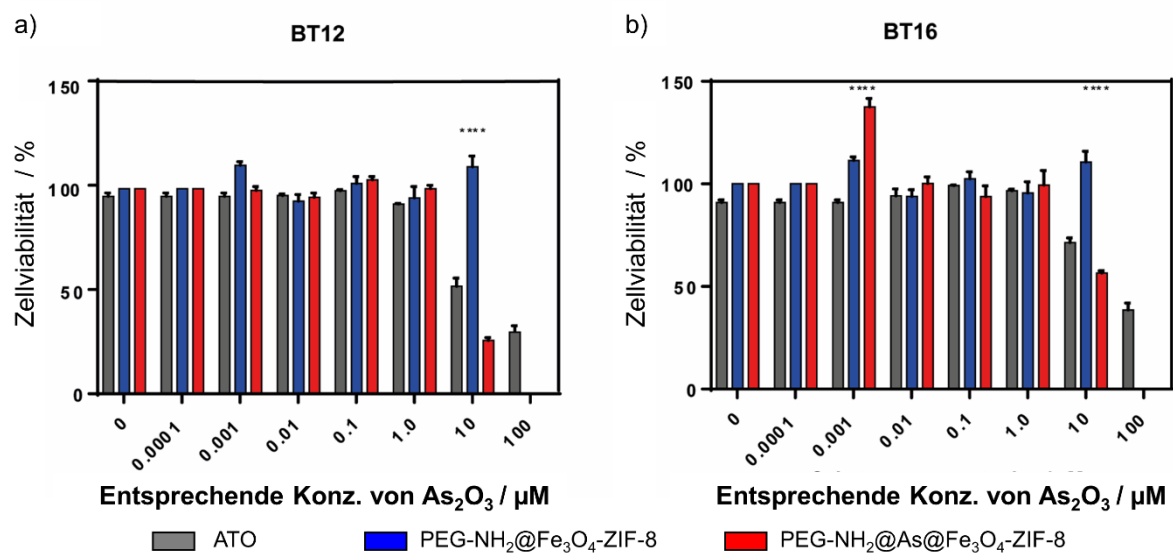


Abbildung E12: Zellviabilität von (a) BT12- und (b) BT16-Zellen nach 24 h Inkubation mit steigenden Konzentrationen von ATO (grau), PEG-NH₂@As@Fe₃O₄-ZIF-8 (rot) und PEG-NH₂@Fe₃O₄-ZIF-8 (blau). Die Daten werden als Mittelwert \pm S.E.M. dargestellt ($n \geq 3$).

F. Diverses

F.1. Publikationsliste

Publikationen, die im Rahmen dieser Dissertation entstanden sind:

1. *In Vitro* Studies of Fe₃O₄-ZIF-8 Core-Shell Nanoparticles Designed as Potential Theragnostics

R. Ettlinger, N. Moreno, N. Ziółkowska, A. Ullrich, H.-A. Krug von Nidda, D. Jiráček, K. Kerl und H. Bunzen

Veröffentlicht in: *Part. Part. Syst. Charact.* **2020**, 35, 2000185.

Zugang: DOI: 10.1002/ppsc.202000185

R. Ettlinger hat den Großteil der Veröffentlichung geschrieben, die Synthese und vollständige Charakterisierung des MOF-basierten Drug Delivery Systems Fe₃O₄-ZIF-8 für arsenhaltige Wirkstoffe durchgeführt. Zudem hat sie sich bei der Anfertigung von TEM-Aufnahmen sowie Elementverteilungsbildern an der Universität Augsburg und der Auswertung der *in vitro* Zytotoxizitätsstudien beteiligt, die am Universitätsklinikum Münster durchgeführt wurden.

2. Zn-MOF-74 as pH-responsive drug delivery system of arsenic trioxide

J. Schnabel, R. Ettlinger, und H. Bunzen

Veröffentlicht in: *ChemNanoMat* **2020**, 6, 1229–1236.

Zugang: DOI: 10.1002/cnma.202000221

R. Ettlinger hat bei der Charakterisierung von Zn-MOF-74 Nanopartikeln als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe die Sorptionsanalysen sowie die Arsen-Freisetzungsstudien durchgeführt und war an deren Auswertung und Interpretation beteiligt. Zudem hat sie beim Verfassen der Veröffentlichung mitgewirkt.

3. Zeolitic Imidazolate Framework ZIF-8 as pH-sensitive Nanocarrier for “Arsenic Trioxide” Drug Delivery

R. Ettlinger, N. Moreno, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Veröffentlicht in: *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 13189–13196.

Zugang: DOI: 10.1002/chem.201902599

R. Ettlinger hat den Großteil der Veröffentlichung geschrieben, die Synthese und vollständige Charakterisierung der Metall-organischen Gerüstverbindung ZIF-8 als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe durchgeführt. Zudem hat sie sich an der Auswertung der *in vitro* Zytotoxizitätsstudien beteiligt, die am Universitätsklinikum Münster durchgeführt wurden.

4. Metal-organic framework nanoparticles for arsenic trioxide drug delivery

R. Ettlinger, M. Sönksen, M. Graf, N. Moreno, D. Denysenko, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Veröffentlicht in: *J. Mater. Chem. B* **2018**, 6, 6481–6489.

Zugang: DOI: 10.1039/C8TB01899E

R. Ettlinger hat den Großteil der Veröffentlichung geschrieben, die Synthese und vollständige Charakterisierung der Metall-organischen Gerüstverbindung MFU-4l als Drug Delivery System für arsenhaltige Wirkstoffe durchgeführt und hat sich an der Auswertung der *in vitro* Zytotoxizitätsstudien beteiligt, die am Universitätsklinikum Münster durchgeführt wurden.

Sonstige Publikationen:

1. Microwave-Assisted Hydrothermal Synthesis, Crystal Structure and Thermal Decomposition of Strontium Citrate Monohydrate $\text{Sr}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$

M. Hämmer, Vivien Wessels, R. Ettlinger, und H. A. Höppe

Veröffentlicht in: *Z. Anorg. Allg. Chem.* **2020**, 48, 4387–4394.

Zugang: DOI: 10.1002/zaac.202000117

R. Ettlinger hat alle EDX-Spektroskopie Analysen mit Strontiumcitrat-Monohydrat $\text{Sr}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, deren Auswertung und Interpretation durchgeführt sowie den entsprechenden Abschnitt in der Veröffentlichung verfasst.

2. CFA-15 – a perfluorinated metal–organic framework with linear 1-D Cull-chains containing accessible unsaturated, reactive metal centres

J. C. Fritzsche, R. Ettlinger, M. Grzywa, S. Jantz, A. Kalytta-Mewes, H. Bunzen, H. A. Höpfe und D. Volkmer

Published in: Dalton Trans. 2019, 48, 15236-15246

Access via: DOI: 10.1039/C9DT02133G

R. Ettlinger hat alle Gassorptionsmessungen und die Bestimmung der Sorptionswärmen für CO, CO₂, H₂ und O₂ mit der perfluorierten Metall-organischen Gerüstverbindung CFA-15 mit linearen 1-D Cu(II)-Ketten durchgeführt. Zudem hat sie deren Auswertung und Interpretation im entsprechenden Abschnitt in der Veröffentlichung verfasst.

F.2. Konferenz-, Workshopteilnahmen und Präsentationen

Vorträge bei Konferenzen und Summer Schools:

1. Multifunctional core-shell composites for pH-triggered drug delivery

R. Ettlinger, N. Moreno, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Vortrag, 1st International School on Advanced Porous Materials, 2019, Como, Italien.

(Präsentationspreis)

2. Multifunctional core-shell nanoparticles for cancer therapy

R. Ettlinger, N. Moreno, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Vortrag, MOF 2018 – 6th International Conference on Metal-Organic Frameworks & Open Framework Compounds, 2018, Auckland, Neuseeland.

Vorträge im Seminar der Arbeitsgruppe Volkmer:

1. Multifunctional Core-Shell Nanoparticles for Cancer Therapy

R. Ettlinger

Vortrag, Seminar Arbeitsgruppe Volkmer, 2019, Augsburg, Deutschland.

2. MFU-4l for drug delivery of arsenic trioxide

R. Ettlinger

Vortrag, Seminar Arbeitsgruppe Volkmer, 2018, Augsburg, Deutschland.

3. Nanoparticles for drug delivery across the Blood-Brain Barrier – Challenges and Opportunities

R. Ettl

Vortrag, Seminar Arbeitsgruppe Volkmer, 2018, Augsburg, Deutschland.

4. Fe₃O₄-MOF Core-Shell Nanoparticles

R. Ettl

Vortrag, Seminar Arbeitsgruppe Volkmer, 2017, Augsburg, Deutschland.

Posterpräsentationen bei Konferenzen:

1. Nano-sized MOFs as ‘arsenic trioxide’ carrier for pH-triggered drug release

R. Ettl, N. Moreno, J. Schnabel, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Posterpräsentation, EuroMOF 2019 – 3rd International Conference on Metal-Organic Frameworks & Porous Polymers, 2019, Paris, Frankreich.

2. MOF nanoparticles as arsenic trioxide carrier for cancer therapy

R. Ettl, N. Moreno, D. Volkmer, K. Kerl und H. Bunzen

Posterpräsentation, 31. Deutsche Zeolith-Tagung, 2019, Dresden, Deutschland.

3. MOF nanoparticles for arsenic trioxide delivery

R. Ettl, M. Sönksen, K. Kerl und H. Bunzen

Posterpräsentation, docMOF 2018, A PhD- run symposium on Metal-Organic Frameworks, 2018, Raitenhaslach, Deutschland. (Posterpreis)

F.3. Förderung

Die im Rahmen dieser Arbeit vorgestellte Forschung und die damit verbundenen Arbeiten wurden von der Else Kröner-Fresenius-Stiftung finanziert (Projekt Nr. 2016_A181). Finanzielle Unterstützung der Gruppe von Prof. Dr. Roland A. Fischer an der T U München, des Programms für Chancengleichheit für Frauen in Forschung und Lehre" der Universität Augsburg, der ProcessNet-Fachgruppe Zeolithe, der Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V., dem Organisations-Komitee der 1st International School on Advanced Porous Materials“, der DECHEMA Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V. und der Royal Society of Chemistry wurden dankbar entgegengenommen.

G. Danksagung

Zunächst möchte ich Herrn Professor Dr. Dirk Volkmer für die Möglichkeit danken, diese Arbeit an seinem Lehrstuhl anfertigen zu dürfen. Das mir entgegengebrachte Vertrauen, das Simulieren vieler Strukturmodelle, die vielen fruchtbaren Kleingruppen-Gespräche während der Promotionszeit und die hervorragende technische Ausstattung des Arbeitskreises haben mir zum einen vieles erleichtert und zum anderen die Möglichkeit gegeben, mir zahlreiche Methoden anzueignen und an den damit verbundenen Herausforderungen zu wachsen.

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin während meiner Promotion Frau Dr. Hana Bunzen. Ich bin ihr sehr dankbar für die Möglichkeit, im Else Kröner-Fresenius-Projekt Nr. 2016_A181 mitwirken zu dürfen. Es war eine große Freude, gemeinsam im Labor an Synthesen und Synthesestrategien zu forschen und neue Ergebnisse zu diskutieren. All ihr fachlicher Rat, das stets sehr schnelle und unkomplizierte Korrekturlesen unzähliger Dokumente, ihre Geduld und ihre Unterstützung haben es mir ermöglicht, mich während meiner Promotion enorm weiterzuentwickeln.

Herrn Professor Dr. Achim Wixforth und Herrn Professor Dr. Stefan Wuttke danke ich für die Bereitschaft für die Übernahme des Zweit- und Drittgutachtens.

All meine Kolleginnen und Kollegen des Lehrstuhls für Festkörperchemie der Universität Augsburg haben durch ein sehr gutes, kollegiales und freundschaftliches Klima zum Gelingen meiner Arbeit beigetragen. Insbesondere verdient Andreas Kalytta-Mewes für die Hilfe mit zahlreichen Geräten Anerkennung. Ein großer Dank gilt auch Jennifer Schnabel, die sowohl für eine herausragende Stimmung im Labor gesorgt hat als auch durch die Ergebnisse ihrer Masterarbeit zu dieser Dissertation beigetragen hat.

Zudem möchte ich mich bei einigen Kollaborationspartnern der Universität Augsburg bedanken: Bei Frau Martina Falb des Lehrstuhls für Chemische Physik und Materialwissenschaften für viele CHNS-Messungen, bei Herrn Professor Krug von Nidda des Lehrstuhls für Experimentalphysik V für magnetische Messungen und bei Herrn Dr. Aladin Ullrich für die Einweisung am Transmissionselektronenmikroskop und die Hilfe bei der Aufnahme von unzähligen TEM-Aufnahmen sowie Elementverteilungsbilder meiner Proben.

Desweiteren soll Herr Dr. Kornelius Kerl und seiner Arbeitsgruppe am Universitätsklinikum in Münster lobend Erwähnung finden. Der Austausch im Hinblick auf medizinische Fragen sowie die gemeinsame Arbeit im Else Kröner-Fresenius-Projekt Nr. 2016_A181 hat mir stets viel Freude bereitet.

Zudem bin ich Herrn Dr. Daniel Jirák am Institut für Klinische und Experimentelle Medizin in Prag sehr für *in vitro* MRT-Messungen mit meinen Proben dankbar.

Außerdem freue ich mich sehr über die finanzielle Unterstützung, die ich während meiner Promotion erhalten habe, denn ohne diese wäre meine Arbeit und zahlreiche sehr schöne Erfahrungen auf nationalen und internationalen Tagungen nicht möglich gewesen. Dieser Dank gilt der Else Kröner-Fresenius-Stiftung, Herrn Professor Dr. Roland A. Fischer der TU München, dem „Programm für Chancengleichheit für Frauen in Forschung und Lehre“ der Universität Augsburg, der ProcessNet-Fachgruppe Zeolithe, der Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V., dem Organisations-Komitee der 1st International School on Advanced Porous Materials“, der DECHEMA Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V. und der Royal Society of Chemistry.

Ein ganz besonderer Dank gilt Marcel und Matthias – vielen Dank für viele konstruktive sowie motivierende Diskussionen über meine Arbeit! Es waren schöne Jahre mit euch an und auch außerhalb der Universität.

Ein großes Dankeschön gilt zudem meiner Familie, die mich während meines gesamten Studiums und meiner Promotion begleitet, motiviert und verständnisvoll unterstützt hat.

Abschließend danke ich dir, mein lieber Philip, für deine tolle Unterstützung während des gesamten Studiums sowie der Promotion, für zahlreiche konstruktive Gespräche, das stetige Motivieren und dafür, dass du stets für mich da warst!